

Проблемы Эволюции

Новости | Об Авторе | Главные вопросы | Книги | Библиотека | Фотоальбом | Видео | Форум

Н.А.Колчанов, В.В.Суслов

Кодирование и эволюция сложности биологической организации

УДК 577.2.08

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск E-mail: kol@bionet.nsc.ru

Рост сложности организмов — глобальный тренд эволюции. Кодирование сложности по современным молекулярно-генетическим данным выглядит как сложный процесс интерференции различных кодов. Качественно более высокая сложность эвкариот по сравнению с прокариотами отражается в особенностях организации их геномов и механизмах реализации генетических программ. Рассмотрены механизмы, обеспечивающие и ограничивающие усложнение организмов (прежде всего эвкариот) в процессе эволюции.

Ключевые слова

Эволюция, геном, генные сети, кодирование, эвкариоты, прокариоты, морфогенез

Природа богата на разнообразие, но скупа на новации.

Ч. Дарвин

Биологическая сложность: измерение и кодирование

Реализация геномных проектов и использование новых методов реконструкции транс-криптомов и метаболомов организмов заставили по-новому взглянуть на старую проблему оценки биологической сложности и связанную с ней проблему прогрессивной эволюции. Так как признаки фенотипа закодированы в геномах, ожидалось, что в разных таксонах геномы будут сильно различаться по числу генов. Расшифровка же геномов выявила что (1) сложность прокариот в целом коррелирует с размерами геномов и числом генов, (2) наблюдаются рост размера геномов и числа генов при переходе от прокариот к эвкариотам и от одноклеточных к многоклеточным; (3) у эвкариот отсутствует связь между биологической сложностью, размерами геномов и числом генов. Последний результат был обескураживающим. Например, *Drosophila melanogaster* содержит всего 13600 генов, а более простой круглый червь *Caenorhabditis elegans* — 19000 генов. Удивительно, что человек и рыба фугу имеют примерно равное количество генов -30000-40000 (Carroll, 2001; Taft, Mattick, 2003). С другой стороны, оказалось, что базовые процессы жизнедеятельности кодируются сравнительно небольшим числом генов, пул которых, вероятно сформировался на заре эволюции при участии горизонтального переноса (Шестаков, 2003а, б) и с тех пор отличается значительным сходством и эволюционной стабильностью у эвкариот и архей, с одной стороны (Суслов и др., 2004, Марков, Куликов, 2005), и у эвбактерий — с другой (KEGG). Остальной геном представляет собой в лучшем случае регуляторную надстройку, в худшем — некодирующую ДНК. Наконец, согласно палеонтологической летописи, организмы с новым типом организации зачастую возникали сравнительно быстро, порой взрывообразно, после чего наступал долгий палеонтологический стазис, когда темпы морфологической эволюции были низки (Симпсон, 1948;

Eldrege, Gould, 1972; Красилов, 1986; Грант, 1991; Марков, 2001,), несмотря на то, что эволюция отдельных генов, по данным молекулярной филогении, не прекращалась (Jong, 1998; Bromham et al., 1999). Более того, для ряда групп палеонтологами выявлено соответствие между формированием таксонов определенного уровня иерархии и геологическим периодом. Так, -550 млн. лет назад на границе протерозоя и кембрия в течение около 30 млн. лет появляются практически все известные нам планы строения билатеральных животных (Bilateria). Иными словами, все типы билатерий сформировались в ходе «кембрийского взрыва[1]» (Соколов, Федонкин, 1988; Morris, 2000) Интересно, что в кембрии появляются не только планы строения, «дожившие» до наших дней (хордовые, моллюски, иглокожие, членистоногие и т.п.), но и много «вымерших» планов строения (Малаховская, Иванцов, 2003). Образование основных классов водных билатерий завершилось в ордовике (Kanygin, 2001; Рожнов, 2005), наземных — в триасе (Михайлова и др., 1989). У наземных растений также были краткие (длительностью не более 25 млн. лет) «эволюционные взрывы»: (на границе силура и девона, -410 млн. лет назад у примитивных сосудистых, -120 млн. лет назад — у цветковых (Тахтаджян, 1961; Kenrick, Crane, 2000).

Чем же вызван рост сложности организмов, отмечаемый палеонтологией, и почему столь различны его результаты у эв- и прокариот? Где заключен потенциал усложнения генетической программы, реализуемой геномом? Как происходит в эволюции усложнение или кардинальная перестройка таких программ без их разрушения. И, наконец, почему программы, демонстрировавшие миллионы лет и поколений поразительную устойчивость, вдруг перестраиваются за считанные тысячелетия и сотни поколений?

Следует сразу отметить, что единого интегрального определения биологической сложности до сих пор нет. Классические определения сложности в основном ориентированы на описание символьных последовательностей (Колмогоров, 1965; Lempel, Ziv, 1976; Rissanen, 1986), а многочисленные попытки описать структурную и динамическую сложность биосистем отличает разнообразие подходов, что делает их трудносравнимыми (Бердников, 1990; McShea, 2001). Тем не менее, можно сказать, что любой фенотипический признак — результат работы определенной генной сети, то есть группы координированно функционирующих генов, состоящих из центрального регулятора (ЦР), белковой (транскрипционный фактор, s-фактор) (Kolchanov et al., 2002a, b), нуклеиновой (миРНК, киРНК у эвкариот (Finnegan, Matzke, 2003; Bartel, 2004), малые РНК у прокариот (Zhang et al., 2003)) и редко — для некоторых плазмид (Gerdes, 1996; Ameisen, 2002, Franch) — белково-нуклеиновой природы; группы генов (кассеты), содержащих в своих регуляторных районах сайты связывания ЦР, чем и обеспечивается координация экспрессии генов кассеты; путей передачи сигналов от внешней среды через рецептор к ЦР (Kolchanov et al., 2002a, b). Значит, длина регуляторных районов генов и их насыщенность сайтами связывания должны коррелировать со сложностью генных сетей, указывая на число регуляторных связей, замкнутых на ген. Регуляторные районы генов эвкариот, по сравнению с прокариотами, очень велики (рис. 1). Так, регуляторный район гена тирозин-аминотрансферазы имеет размер 10000 пар нуклеотидов и содержит более 40 сайтов. Размер регуляторного района гена у эвкариот может быть на порядки больше размера его кодирующей части (Колчанов и др., 2000; Kolchanov et al., 2002c). Представим, что регуляторный район гена содержит N сайтов связывания регуляторных белков. Каждый сайт может быть свободным или связанным с регуляторным белком. Тогда количество состояний регуляторного района равно 2^N. При N=20 — около миллиона состояний! Для чего необходима такая емкость регуляторного кода? Очевидно, чтобы в многоклеточном организме один и тот же ген в зависимости от стадии клеточного цикла, типа клетки, ткани, органа, стадии развития организма мог иметь разные паттерны экспрессии (Колчанов и др., 2003). С огромной емкостью регуляторного кода согласуется незначительная (6—15% от протеома), доля белков-регуляторов транскрипции у разных эвкариот (Hermoso et al., 2004, The Gene..., 2004). Такой комбинаторный принцип кодирования генетической информации у эвкариот — ароморфоз, позволивший фактически безгранично наращивать сложность генетических программ без существенного роста размеров геномов.

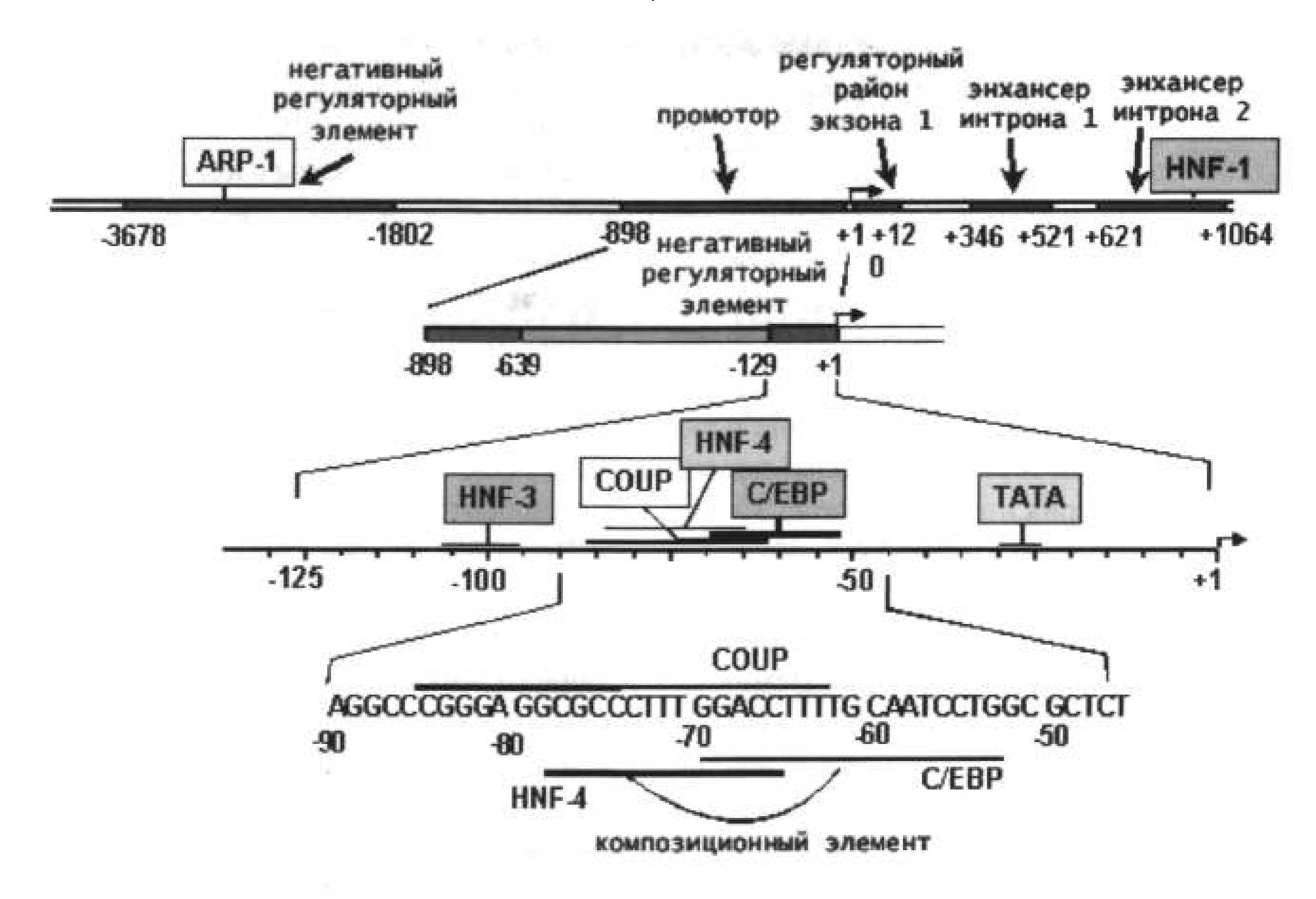
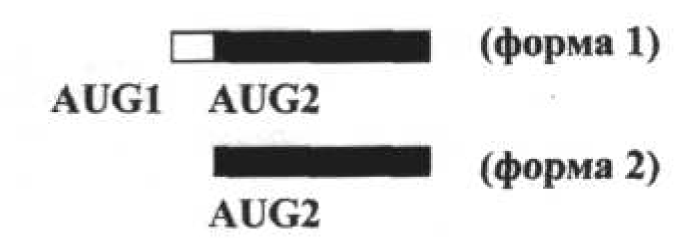


Рис. 1. Регуляторные районы, контролирующие транскрипцию эвкариот, имеют большую длину и содержат большое количество регуляторных элементов: фрагмент иерархически организованного регуляторного района гена аполипопротеина В человека (Kolchanov et al., 2002c).

Второй способ роста сложности генных сетей — увеличение числа уровней иерархии их регуляции. Так, если у прокариот регуляция экспрессии генов идет в основном лишь на уровне транскрипции и трансляции, то у эвкариот только между ними вклинились 1) регуляция на уровне нуклеосом (Kornberg, Lorch, 1999; Levitsky et al., 2001): 2) модификации белков хроматина (Mahmoudi, Verrijzer, 2001; Narlikar et al., 2002), 3) транспорта РНК (Cremer, Cremer, 2001), 4) сплайсинга и 5) процессинга РНК (Black, 2000; Graveley, 2001) и 6) пространственного распределения хромосом в ядре (Стегний, 1991; Cremer, Cremer, 2001). Причем на каждом из этих уровней возможна своя комбинаторика. Например, комбинаторика экзонов и интронов в ходе альтернативного сплайсинга гена *DSCAM* дрозофилы, участвующего в формировании нервной системы, позволяет получить с одной пре-мРНК десятки тысяч вариантов белка (Black, 2000). На уровне трансляции комбинаторика альтернативных стартов трансляции, обеспечивающая разнообразие вариантов мРНК, отличающихся структурой первого интрона позволяет модифицировать характеристики белков, получаемых с одного транскрипта (Bab et al., 1999, Watanabe et al., 2001; Outten, Culotta, 2004) (рис. 2). Таким образом, с ростом числа уровней регуляции сложность генных сетей растет экспоненциально!



	Форма 1	Форма 2
1. Различная локализация		
Glutathione reductase (S. cerevisiae; Outten & Culotta, 2004)	митохондрии	цитоплазма
Protoporphyrinogen oxidase II (Spinach; Watanabe et al., 2001)	хлоропласты	митохондрии
2. Различные функции		
Histone H4 (H. sapiens; Bab et al., 1999)	гистон H4	фактор роста
3. Различные свойства белка		
Suppressor of citokine signalling 3 (H. sapiens; Sasaki et al., 2003)	нестабильная	стабильная

Рис. 2. Трансляционный полиморфизм мРНК у эвкариот. В результате комбинаторики секреторного пептида на N-конце аминокислотной цепи, белки, считывающиеся с одного и того же транскрипта, способны изменять свою локализацию в клетке, выполнять в ней различные функции и до некоторых пределов менять свои свойства.

Особый случай увеличения числа уровней иерархии — образование сложных молекулярных регуляторных комплексов. Простейший пример: композиционные элементы -пары сайтов связывания, работающих как единое целое за счет белок-белковых взаимодействий (рис. 1). За счет комбинаторики белков в комплексе при той же емкости кода возможен запуск различных генных сетей (рис. 3) или одной и той же генной сети в альтернативных режимах. Например, белковый комплекс регуляторов E2F-1/DP-1 активирует кассету генов, запускающую переход из G1 в S фазу клеточного цикла, добавление в этот комплекс белка pRB ингибирует ту же кассету (Turnaev, Podcolodnaya, 2002) (рис. 4). Примерами хорошо изученных сложных регуляторных комплексов служат комплексы транскрипционных факторов, взаимодействующих с РНК-полимеразой в про-моторной области генов (Ананько и др., 2000), комплексы мембранных рецепторов, связывающих сигнальные пути с внешней средой и между собой (Clark, 2001; Lum, Beachy, 2004), комплекс факторов элонгации трансляции с рибосомой (Спирин, 1986). Методы компьютерной протеомики, реконструирующие сети белок-белковых взаимодействий по информации о наличии в белках сайтов белок-белковых взаимодействий, позволяют оценить потенциальное разнообразие таких сетей, которое на несколько порядков превышает разнообразие генных сетей (Giot et al., 2003).

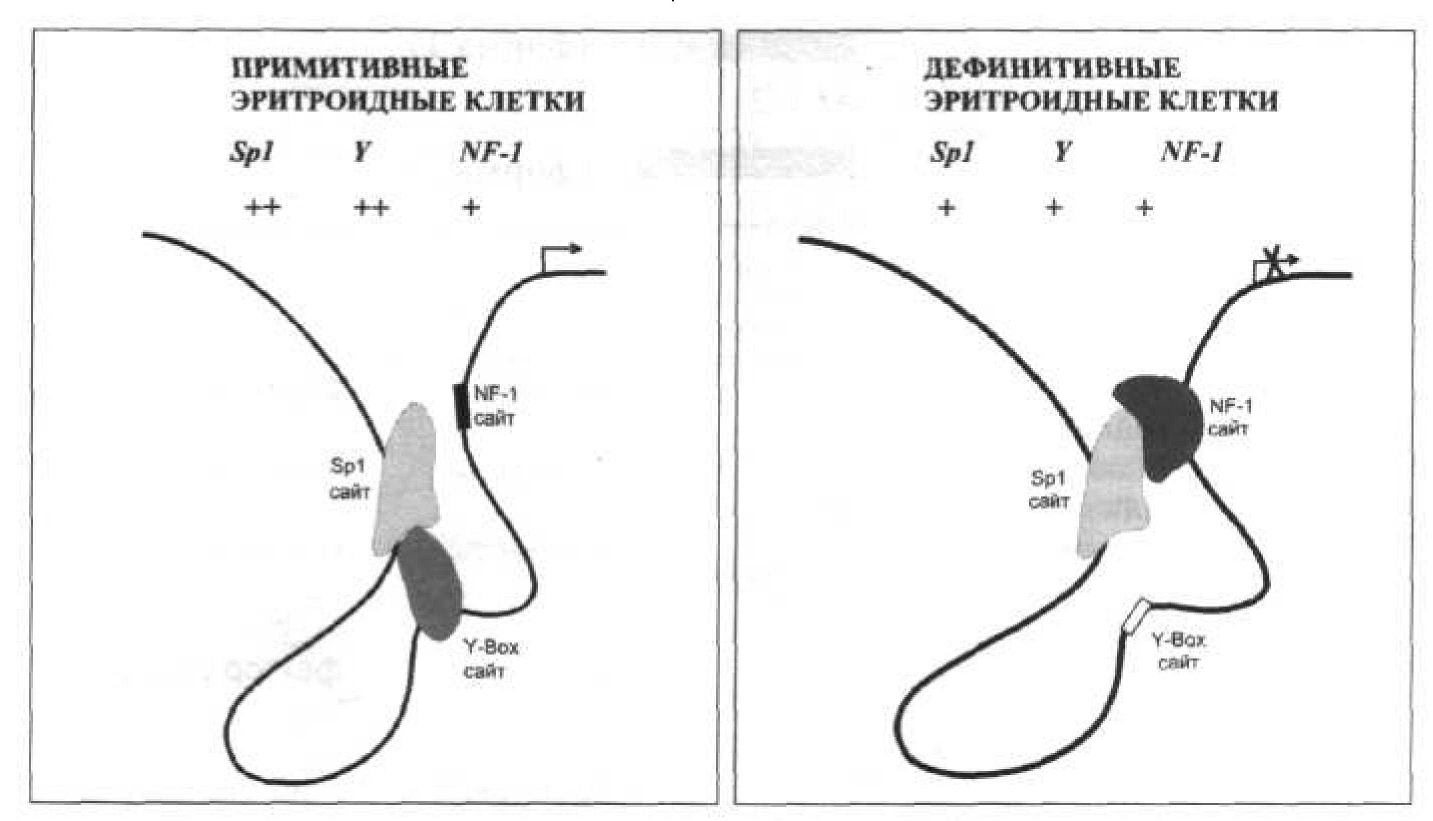


Рис. 3. Комбинаторика белок-белковых взаимодействий может обеспечивать стадиеспецифичес-кую регуляцию экспрессии генов эвкариот: образование комплекса транскрипционных факторов Spl и Y-box запускает экспрессию гена эмбрионального альфа-глобина в примитивных эритроцитах цыпленка; образование комплекса транскрипционных факторов Spl и NF-1 блокирует экспрессию того же гена в дефинитивных эритроцитах. Вероятность образования того или иного комплекса зависит от концентрации транскрипционных факторов (обозначена знаками +) на соответствующей стадии развития (по Knezetic, Felsenfeld, 1993).

Рис. 4. Альтернативная репрессия и активация генной сети эвкариот за счет комбинаторики белок-белковых

взаимодействий. Фрагмент генной сети клеточного цикла эвкариотической клетки (реконструкция на основе базы данных GeneNet): белковый комплекс регуляторов E2F-1/DP-1 активирует кассету генов, запускающую переход из G1 в S фазу клеточного цикла, добавление в этот комплекс белка pRB ингибирует ту же кассету (Turnaev, Podcolodnaya, 2002).

Но даже это разнообразие не предел! Использование конформационных кодов позволяет еще на несколько порядков увеличить потенциальное разнообразие протеомных сетей. Конформация сайтов белок-белковых взаимодействий формируется, как правило, в ходе сворачивания (фолдинга) аминокислотной цепи в третичную структуру. То есть, считываясь с одного гена, имея идентичные аминокислотные цепи, но по-разному свернутые белки будут иметь различные свойства. Повысить вероятность сворачивания латентных третичных структур можно за счет считывания с разных стартов трансляции (см. выше), синтеза особых шаперонов (Бельков, 2002) или прионизации (Инге-Вечтомов, 2000). Консервативная N-концевая часть приона насыщена специфическими повторами аминокислот и склонна спонтанно (?) менять фолдинг, после чего молекула приона вызывает цепную реакцию смены фолдинга других подобных ей молекул, нормально синтезирующихся в клетке (рис. 5). Прогрессивно накапливаясь в тканях, они постепенно нарушают формирование цитоскелета, убивая клетки, — развивается так называемая «медленная инфекция» (куру, скрэпи, болезнь Крейтцфельдта-Якоба, губчатые энцефалопатии и др.) (Prusiner, 1996a, b). Отметим, что процесс прионизации формально идентичен матричному синтезу: первичный прион превращает вновь синтезируемые молекулы в собственное подобие, но используя при этом не линейный (последовательность нуклеотидов), а пространственный (конформационный) код. Прионизацию считали экзотическим свойством белковых болезнетворных агентов, пока не оказалось, что у дрожжей тем же свойством обладают облигатно необходимые регуляторные молекулы — факторы терминации трансляции. Так, фактор eRF3 имеет характерный для приона N-терминальный участок, консерватизм которого говорит о его важности в эволюции. Его прионизация вызывает превращение eRF3 в PSI-фактор, который повышает вероятность проскока рибосомой стоп-кодонов. В итоге супрессируются нонсенс-мутации, и эта супрессия наследуется, пока в цитоплазме есть хоть одна молекула PSI-факто-ра. Эволюционным следствием такой супрессии может быть, например, эпизодическое прочтение ранее «молчавших» псевдогенов, что позволяет вновь ввести их в обиход эволюции и резко повысить изменчивость (Инге-Вечтомов, 1998, 2000).

Прионизация — особый пример такого широко распространенного в живой природе способа увеличения сложности, как взаимодействие множества кодов. Под кодом будем понимать любой тип контекста матрично воспроизводящихся макромолекул или ансамблей макромолекул, значимый для выполнения определенной биомолекулярной функции. Преобладающие в геномах эвкариот некодирующие последовательности, вероятно, кодируют нечто, не требующее привлечения традиционного триплетного кода (Трифонов, 1997). В противном случае они выродились бы в случайные последовательности, элиминируемые отбором, как это происходит у прокариот (Rogozin, 2002). Первыми из надтриплетных кодов эвкариот стали изучаться линейные надтриплетные коды ДНК, связанные с нуклеотидным контекстом сайтов связывания транскрипционных факторов. Известно, что величины активностей сайтов связывания определяются спецификой их взаимодействий с регуляторными белками, зависящей от конформационных/физико-хи-мических свойств, задаваемых нуклеотидным контекстом ДНК (Ponomarenko et al, 1999). Меняя контекст, можно влиять на самые разнообразные свойства функциональных сайтов, например, на их сродство к регуляторным белкам, время жизни ДНК-белковых комплексов, кинетические характеристики их формирования, и т.п. (Ponomarenko et al., 2001). Интересно, что даже одиночные нуклеотидные замены способны существенно менять величину активности сайтов связывания — от полной ее потери до выраженного увеличения, а также приводить к появлению активных сайтов в ранее нефункциональной ДНК (Ponomarenko et al., 2001).

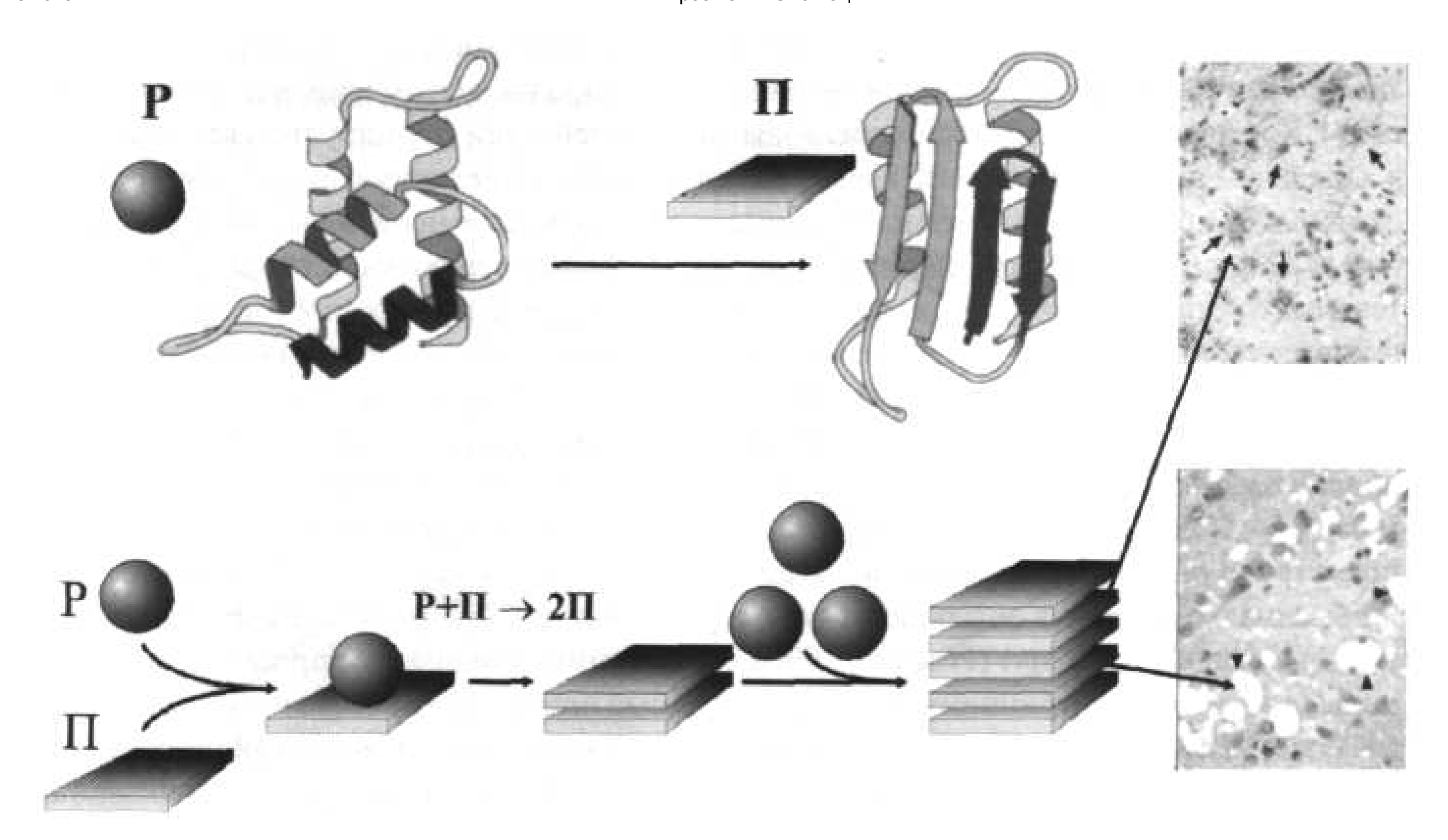


Рис. 5. Механизм развития прионных «медленных инфекций» (по Prasiner, 1996a,b). Молекула прионного белока может принимать две конформации — растворимую глобулярную (Р) и патогенную (П), способную вызывает цепную реакцию смены конформации у глобулярных подобных ей молекул, что ведет к образованию миелоидных тяжей и бляшек в тканях головного и спинного мозга (фото справа).

У эвкариот, по сравнению с прокариотами, конформационные/физико-химические свойства ДНК играют существенно большую роль, так как у генспецифического транскрипционного комплекса, формирующегося из определенного набора транскрипционных факторов, взаимодействущих со своими сайтами связывания, белками базального комплекса и между собой, значительно больше время существования, состав и размер, а, кроме того, ДНК эвкариот имеет нуклеосомную упаковку, задаваемую характерным ди-нуклеотидным контекстом (Kornberg, Lorch, 1999) Элементами кода нуклеосомной упаковки ДНК являются короткие олигонуклеотиды, распределенные определенным образом вдоль нуклеосомного сайта и определяющие конформационные свойства ДНК (Satchwell et al., 1986), оптимальные для взаимодействия с гистоновым октамером.

Хроматин не только обеспечивает высокую степень компактизации геномной ДНК в ядре, что критически значимо при больших размерах геномов эвкариот. Он является также важнейшим фактором регуляции транскрипции генов эвкариот, обеспечивая, во-первых, «разметку» транскрипционно-активных участков геномов (Levitsky et al., 2001), а во-вторых — изменяя порядок связывания/сродство транскрипционных факторов с ДНК вследствие химических модификаций гистонов (Agalioti et al., 2002; Hassan et al., 2002). Регуляция транскрипции генов требует особого расположения нуклеосом для обеспечения доступности функциональных сайтов ДНК определенным регуляторным белкам, или наоборот — для экранирования таких сайтов (рис. 6). Так, промоторам генов домашнего хозяйства свойственна ослабленная нуклеосомная упаковка ДНК или ее полное отсутствие (Levitsky et al., 2001). По-видимому, это обеспечивает легкий доступ к промоторам белков базального транскрипционного комплекса, что необходимо для эффективной инициации транскрипции. Напротив, промоторы тканеспецифических генов, как правило, характеризуются сильной нуклеосомной упаковкой ДНК. Ее разрушение требует перестройки хроматина (Levitsky et al., 2001; Narlikar et al., 2002), ограничивая эффективность транскрипции, но, с другой стороны, специфическая модификация гисто-нов облегчает формирование из общего пула транскрипционных факторов тканеспеци-фичного транскрипционного комплекса на регуляторных районах данного гена.

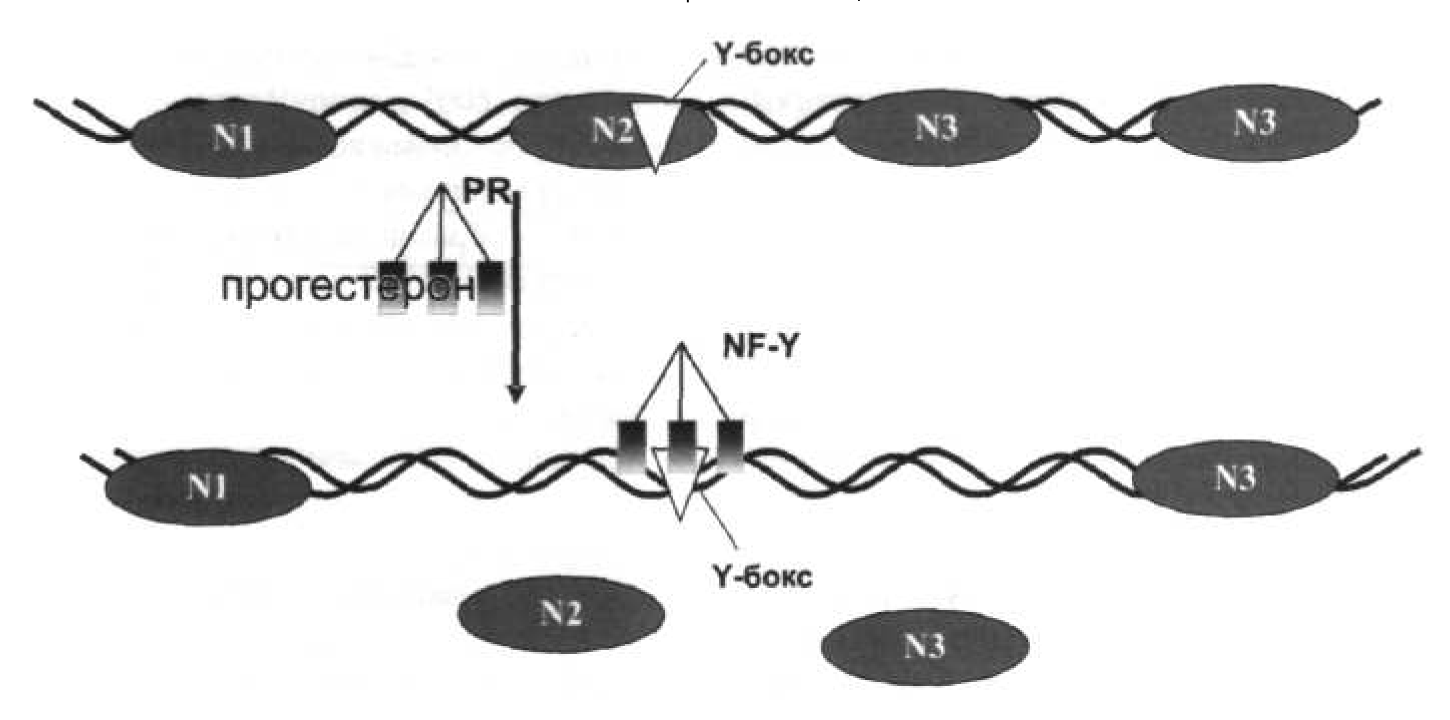


Рис. 6. Комбинаторные механизмы регуляции транскрипции генов эукариот: нуклеосомная упаковка ДНК. Статус хроматина определяется состоянием клетки и может меняться в ходе ее функционирования. В области энхансера гена утероглобина в клетках слизистой оболочки матки кролика, в репрессированном состоянии расположен массив нуклеосом (N...), препятствующий связыванию транскрипционных факторов с ДНК. При гормональной индукции прогестероном (PR) нуклеосомный массив разрушается под действием транскрипционного фактора NF-Y и энхансер становится доступен для взаимодействия с другими транскрипционными факторами (по Scholz et al., 1999).

Экзон-интронная структура свойственна большинству расшифрованных генов эвка-риот (Saxonov et al., 2000; Sakharkar et al., 2002; Gopalan et al., 2004). Замечательно, что интроны не являются генетически инертной ДНК (Mattick, Gagen, 2001; Fedorova, Fedorov, 2003), так как содержат большое разнообразие регуляторных элементов, влияющих на экспрессию генов — сайты связывания транскрипционных факторов, энхансеры, альтернативные промоторы, сайты метилирования и т.д. (Kolchanov et al., 2002c). Показано (Denisov et al., 1997; Levitsky et al., 2001), что интроны обладают более высоким потенциалом формирования нуклеосом по сравнению с функционально более нагруженными экзонами. Предполагается, что само по себе возникновение мозаичной структуры генов связано с нуклеосомной упаковкой ДНК (Соловьев, Колчанов, 1985; Csordas, 1989). Нук-леосомная упаковка геномной ДНК требует формирования нуклеосом в среднем на расстоянии 150-250 п.о. Однако в силу ограничений со стороны кодирующих последовательностей гены не всегда могут иметь нуклеотидный контекст, обеспечивающий формирование стабильных нуклеосом (Levitsky et al., 2001). Кодирующие последовательности, не удовлетворяющие этим условиям, могли быть разделены нитронами. Таким образом, «рыхлый» геном эвкариот обеспечивает лучшие условия для взаимодействия различных кодов, чем «плотный» геном прокариот.

Для многих белков установлено соответствие между экзонами генов и доменами кодируемых ими белков (De Souza et al., 1996). Это создает молекулярную основу для блочной эволюции за счет перекомбинирования экзонов — образования новых белков из функциональных частей их предшественников (Gilbert et al., 1997; Long et al., 2003). У прокариот проблема мутационного поиска новых вариантов генов не имеет большой остроты из-за гигантских численностей популяций и широкого распространения горизонтального переноса генов (Levin, Bergstrom, 2000). Однако она существенна для эвкариот из-за, как правило, малой численности их популяций. Широкое распространение нитронов и развитие на их основе механизмов изменчивости на основе комбинаторики блоков генов и белков (Lynch, Conery, 2003) позволило эвкариотам приобретать новые варианты молекулярных структур без необходимости роста частоты точковых мутаций. В итоге увеличение сложности через оптимизацию взаимодействия кодов вызвало рост комбинаторной сложности и породило новый (нуклеосомный) уровень регуляции транскрипции. Таким образом, усложнение сложных систем — процесс синергичный[3]. (3 Пожалуй, наибольшего совершенства синергичного роста сложности достигается в иммунной системе. Например, у человека V- и C- области иммуноглобулиновых генов кодируются отдельными локусами на одной и той же хромосоме. V-области легких цепей формируется путем случайного объединения сегментов ДНК из 2-х наборов — {V} и {J}, а V-области тяжелой цепи — из трех наборов: {V}, {D} и {J}. Генерируемое при этом разнообразие вариантов иммуноглобулинов достигает ~ 107-108 молекул (Фогель, Мотульски, 1990). Кодирование такого количества белков без использования комбинаторики потребовало бы увеличения размеров генома до 1010-1011 п.н., то есть в 10-100 раз.)

В настоящее время в рамках эпигенетики и протеомики начинает широко разворачиваться изучение кодов модификации ДНК и хроматина, а также кодов (контекстного, конформационного, кортикального, функционального и др.), связанных с другими типами макромолекул (белки, гликопротеины) или их ансамблей (генные сети). Таким образом, триплетный и надтриплетные коды ДНК — лишь первый, но фундаментальный уровень кодировки биологической сложности. Второй уровень использует информационные возможности структур, в которых участвуют ДНК, РНК, белки, а также химические группы, модифицирующие нуклеотиды или аминокислоты (табл. 1). Наконец, третий уровень связан с кодировкой узнавания таких структур, обеспечивая интерференцию различных механизмов эпигенетической наследственности. В итоге достигается прочтение закодированных в геноме программ в строго контролируемых условиях[4], которые, передаваясь от поколения к поколению при митозе, обеспечивают поддержку единожды установленного состояния дифференцировки клеток (Zuckerkandl, 2002; Чуриков, 2005). (4 Эпигенетические механизмы могут обеспечить не только строгий контроль условий, но и контроль разброса этих условий. Например, точность воспроизведения метилирования у эвкариот достигает лишь 95% на сайт CpG на деление, то есть обеспечивается сохранение статуса метилирования протяженных участков ДНК, но не отдельных нуклеотидов (Riggs et al., 1998).) Например, у эвкариот существуют специальные механизмы перестройки структуры хроматина (remodeling), меняющие нуклеосомную «разметку» ДНК в зависимости от дифференцировки и функционального состояния клетки (Cosma, 2002; Narlikar et al., 2002). Механизм такой перестройки структуры хроматина высоко консервативен, но его запуск определяется генными сетями функционального состояния клетки и клеточной дифференцировки, варьирующими у разных эвкариот (Cosma, 2002). Ремоделлинг хроматина — не только важнейший фактор регуляции экспрессии генов, но и механизм кодирования эпигенетических эффектов. Например, спецификация Hox-генами тканей сегментов тела *D. melanogaster* эпигенетически наследуема и зависит от белков семейств Polycomb, Polyhomeotic и tritorax (Mahmoudi, Verrijzer, 2001). Белки этих семейств ответственны за модификацию структуры хроматина, поддерживающих транскрипцию *Hox*-генов в потомках единожды детерминированной клетки (Bonifer, 1999; Mahmoudi, Verrijzer, 2001).

У плацентарных млекопитающих белки семейства Polycomb участвуют также в поддержании геномного импринтинга, обеспечивающего родитель-специфичную инактивацию одной из копий генов диплоидного организма, предотвращая партеногенез. Сложное и еще не до конца изученное явление геномного импринтига хорошо иллюстрирует явление интерференции различных эпигенетических механизмов: кроме белков Polycomb в нем участвуют механизмы метилирования ДНК, модификации гистонов и, возможно, РНК-интерференция[5] (Fournier et al., 2002; Seitz et al., 2003; Delaval, Feil, 2004). (5 РНК-интерференция — регуляция экспрессии генов малыми РНК, экспрессирующимися с особых генов (миРНК), либо с участков генов-мишеней (киРНК — короткая интерферирующая РНК)). РНК в -20-22 нуклеотида, связываются с комплементарным сайтом мРНК гена (мишенью), инги-бируют ее трансляцию или разрушают ее (Bartel, 2004), удаляя белки ЦР родительской клетки в ее потомках (Reinhart et al., 2002, Rhoades et al., 2002). Такое взаимодействие требует однозначного соответствия различных эпигенетических кодов. Изменение соответствия (например, в силу мутации в сайте ДНК, несущем эпигенетическую метку) может изменить всю картину регуляции экспрессии. Например, при том же уровне метилирования импринтированный ген GrblO мыши проявляет материнскую экспрессию, а гомологичный ему GRB10 человека экспрессируется биаллельно, что, вероятно, связано с мутацией, изменившей узнавание одинаковых эпигенетических меток (Arnaud et al., 2003). Интересно, что реакция некоторых белков эпигенетической машины на подобные мутации может зависеть от предыстории клеток. Так, хроматиновый белок CTCF связывается с метилированными ICR (imprinting control region), изменяя экспрессию генов. Мутации в ICR, меняющие их паттерн метилирования, влияют на связывание CTCF лишь в клетках, прошедших материнский мейоз. В митотических и отцовских половых клетках такие мутации никак не проявляются (Pant et al., 2003).

Таблица 1. Некоторые механизмы эпигенетической наследственности (по: Чуриков, 2005, с изменениями). Идентичные эффекты, указанные для механизмов, указывают на взаимодействие механизмов

Механизм	Эффект
Метилирование ДНК	Репрессия генов: тканеспецифичная, онтогенез-специфичная, родитель-специфичная (геномный импринтинг млекопитающих), аллель-специфичная (парамутации); репрессия и деградация экзоДНК; гетерохроматинизация.
Метилирование лизинов в гистонах	Репрессия (H1, H3-K9, H3-K27, H4-K20)/активация транскрипции (H3-K4, H3-79); изменение паттерна ацетилирования и фосфорилирования гистонов.
(Де)ацетилирование, (де)фосфорилирование, (де)убиквитинирование гистонов	Тканеспецифичная, онтогенез-специфичная репрессия/активация генов за счет изменения нуклеосомной упаковки ДНК и сродства с ДНК хроматина транскрипционных факторов; гетерохроматинизация.
Варьирование гистонного состава нуклеосом	Репрессия генов: тканеспецифичная, онтогенез-специфичная, родитель-специфичная (геномный импринтинг растений, млекопитающих (?)); репрессия экзоДНК, деградация экзоРНК; перестройка хромосомной организации генома (ядерный дуализм инфузорий); «концертная регуляция» генов.
РНК-интерференция (RISC)	Репрессия генов, изменение паттерна метилирования генов, прицентромерная репрессия (дрожжи), различные модификации хроматина, элиминация ДНК, LTR-репрессия; гетерохроматинизация.
РНК-интерференция (non-RISC)	Тканеспецифичная, онтогенез-специфичная, родитель-специфичная (геномный импринтинг млекопитающих) репрессия/активация генов, путем изменения нуклеосомной разметки ДНК, паттернов метилирования генов и ацетилирования гистонов; гетерохроматинизация.
	общая, сайтспецифичная, онтогенез-специфичная (?) репрессия/активация генов; LTR-репрессия; «концертная регуляция» генов; гетерохроматинизация; преодоление мейотического барьера эпигенетическими механизмами.

Выше отмечено, что экзон-интронная структура облегчает как комбинаторную блоч-но-модульную эволюцию генов, так и тонкую регуляцию их экспрессии и свойств кодируемых ими белков за счет комбинаторики блоков альтернативного сплайсинга и считывания с альтернативных стартов транскрипции и трансляции. На такую «первичную» блочно-модульную структуру ДНК у эвкариот накладывается «вторичная» блочно-мо-дульная структура хроматина — доменная организация хромосом. Эвкариотические хромосомы состоят из последовательно расположенных вдоль их оси форум-доменов, которые служат единицами хромосомной эпигенетической репрессии. Примечательно, что у далеких в систематическом отношении эвкариот длина форум-доменов варьирует лишь в 4 раза (50-200 тыс.п.о.), а в макронуклеусе инфузорий им соответствуют хромосомные фрагменты. Вышеотмеченные белки ремоделлинга (Polycomb, Polyhomeotic, tritorax и др.) связываются с хроматинам преимущественно на границах форум-доменов, где повышена концентрация их сайтов связывания. С этими границами также часто ассоциированы островки интеркалярного гетерохроматина, «ломкие» районы хромосом, мик-росаттелитные последовательности и сайты посадки мобильных элементов. Поскольку гены миРНК (по крайней мере, у человека) также часто расположены в «ломких» районах хромосом, есть основания предполагать, что через взаимодействие своих механизмов (см. табл.1) вся эпигенетическая машина так или иначе связана с границами форум-доменов (Tchurikov et al., 1998; Чуриков, 2005). Иными словами, блочно-модульный принцип организации пронизывает как генетическую (ДНК), так и эпигенетическую (хроматин) структуру генома эвкариот. При блочно-модульной эволюции генов происходит также блочно-модульная перетасовка их эпигенетической разметки. В свою очередь, эпигенетическая разметка, связанная с образованием «ломких» районов хромосом, облегчает блочно-модульную эволюцию геномов за счет дупликаций, делеций и транслокаций. Комбинаторика на одном уровне облегчает комбинаторику на другом и наоборот! При этом тонкая индивидуальная регуляция генов эвкариот (в отличие от

стехиометрически жесткой, коллективной в оперонах прокариот) облегчает эволюционную оптимизацию регуляции в таких перестроенных геномах. Действительно, геномные проекты показывают, что у прокариот наиболее консервативные районы генома либо насыщены оперо-нами, либо имеют аномально высокую концентрацию длинных оперонов. Уникальные и наиболее быстро эволюционирующие гены, напротив, сконцентрированы в коротких оперонах, часто локализуясь вблизи горячих точек рекомбинации[7].

(7 Интересно, что в число таких точек входят точки инициации и терминации репликации. Возможно, это является одной из причин унирепликонной организации генома прокариот. О высокой скорости эволюции таких районов говорит и тяготение к ним генов, кодирующих белки, работающие на мембране или в примембранном пространстве. Контактируя с внешней средой, такие белки должны оперативно отслеживать ее изменения, то есть быть эволюционно лабильными (Tamames, 2001, Omelchenko et al., 2003).)

В этих же районах повышена концентрация генов с аномальным нуклеотидным составом, что говорит об их возможном горизонтальном переносе[8].

(8 Действительно, «чужой» ген даст адаптивное преимущество лишь встроившись под оптимальный промотор, что маловероятно в геноме с длинными оперонами. Возможно именно «рыхлая» структура геномов эвкариот могла необратимо направить в ходе симбиогенеза вектор горизонтального переноса от бактерий-симбионтов в ядро. В итоге, клетке эвкариот удалось стабилизировать состав эндосимбионтов путем облигатного перемещения их жизненно важных генов в ядро и формирования из них и собственных генов системы централизованной регуляции совокупного метаболизма. В прокариотических сообществах (биопленках, матах и др.) формирование такой централизованной регуляции затруднено, так как горизонтальный перенос может с равной вероятностью идти во всех направлениях. Более того, полногеномные исследования показали, что в ходе горизонтального переноса прокариотические клетки могут служить своеобразными «проточными емкостями» для потока генов (Шестаков, 2003а,б). Поэтому регуляция совокупного метаболизма в прокариотических сообществах идет путем адаптивной динамики (Заварзин, 2003), что равносильно микроэволюционным процессам в популяциях эвкариот и требует большой численности организмов, невозможной при эндосимбиозе.)

Таким образом, оперонная структура, оптимизируя регуляцию, формирует свой вектор эволюции, ослабляя эволюционную лабильность и тем препятствуя кардинальному усложнению генома (Tamames, 2001; Omelchenko et al., 2003). Развитие блочно-модульного принципа организации генома, возможно, первоначально связанное с необходимостью компактизации большого количества ДНК эвкариот (Cavalier-Smith, 2002a,b), в ходе эволюции вылилось в формирование сложной иерархизированной системы укладки ДНК в структуры хроматина (нуклеосомные, соленоидные, петлевые, форум-доменные) (Tchurikov et al., 1998). Формирование таких структур, в свою очередь, потребовало развития «некодирующих» последовательностей (интроны, повторы, SAR и др.), которые сами явились границами новых блоков генома, предоставляя новые возможности как для комбинаторной эволюции, так и для оптимальной регуляции генома. Представляется, что возникновение у эвкариот комбинаторных механизмов регуляции транскрипции, экзон-интронной структуры, механизмов альтернативного сплайсинга и эпигенетических механизмов, создав основы для исключительно эффективного способа кодирования огромного разнообразия вариантов одного и того же белка, сделало ненужным дальнейшее радикальное увеличение геномов эвкариот. Это эволюционное приспособление широкого профиля, позволяющее эвкариотам фактически безгранично наращивать сложность генетических программ экспрессии индивидуальных генов без необходимости существенного увеличения размеров геномов. Возможно, этим частично и объясняется замораживание сложности геномов эвкариот по числу содержащихся в них генов на уровне 15000—30000. Количество генов в геномах значительной части видов растений, беспозвоночных и млекопитающих попадает в этот интервал, несмотря на огромные различия в морфологической сложности этих организмов, в механизмах их онтогенеза и адаптации к изменениям в окружающей среде (Колчанов и др., 2003).

Механизмы изменения сложных биологических структур

Любой фенотипический признак — результат работы определенной генной сети. Генные сети можно разбить на четыре класса: сети гомеостаза, циклических процессов, стрессового ответа и морфогенеза. В сетях гомеостаза превалируют отрицательные обратные связи, в циклических сетях имеется баланс между положительными и отрицательными обратными связями, в остальных важную роль играют положительные обратные связи, уводящие систему от исходного состояния. В любой генной сети есть ЦР, одновременно активирующий множество генов — генную кассету. Мутации ЦР могут менять функции больших групп генов, приводя к выраженным фенотипическим изменениям. (Kolchanov et al., 2002a,b; Stepanenko et al., 2002). Независимо от природы ЦР, можно представить как минимум четыре типа мутаций, существенно меняющих работу генных сетей: 1) мутации в регуляторных районах гена ЦР, 2) мутации в его кодирующей части, меняющие структуру молекулы ЦР, нарушая стереохимию соответствия атомных группировок этой молекулы и функционального сайта ДНК, 3) мутации, приводящие к формированию корегуляторов, изменяющих конформацию молекулы ЦР, тем самым, меняя ее активность, и 4)

мутации, перепрофилирующие ЦР (например, перенос сайта связывания регулятора с одного гена на другой в результате транслокации, или дупликация гена ЦР с последующей сменой функции одного из паралогов) (рис.7). Пример быстрой эволюции из-за мутаций первого типа — селекция кукурузы из дикого предка - теосинта, происходившая 7 тыс. лет назад в Центральной Америке и связанная с положительным отбором и фиксацией в промоторе гена *tbl (teosinte-branchedl),* уникального комплекса мутаций, обусловивших возникновение характерных особенностей строения початка кукурузы (Wang et al., 1999). Пример быстрой эволюции из-за мутаций второго типа — независимое объединение в ходе селекции культурной капусты различных нонсенс-мутаций в 4-ом и 5-ом экзонах генов транскрипционных факторов BoAP1-B и BoCAL, что позволило вывести сорта с измененой морфологией соцветия — цветную капусту и брокколи[9] (Lowman, Purugganan, 1999) (9 Примечательно, что в разрозненном виде указанные мутации до сих пор выявляются соответственно в диких популяциях теосинта и в популяциях культурной капусты, что позволяет повторить селекцию.). Эволюционное значение мутаций второго типа иллюстрирует также тот факт, что у *Arabidopsis thaliana* гены, управляющие транскрипцией, наименее консервативны по сравнению с генами других функций организма (The Arabidopsis..., 2000).

Изучение генных сетей морфогенеза билатерий дает прекрасные примеры эволюционной значимости мутаций третьего и четвертого типов. Так, подсеть позднего эмбриогенеза членистоногих, отвечающая за сегмент-специфический органогенез, содержит множество блоков. Каждый из них ответствен за морфофункциональную спецификацию конкретного сегмента тела или его части, то есть за формирование специфических тканей и органов в сегментах. ЦР каждого такого блока служит транскрипционный фактор — продукт определенного Hox-гена, экспрессируемого в соответствующем сегменте (Weigmann et al., 2003). Hox-гены получают регуляторные воздействия от генных сетей раннего эмбриогенеза, устанавливающих оси тела и регулирующих разделение клеточной бластодермы на сегменты. Надо различать, как минимум, две функции Hox-генов — морфофункциональную спецификацию сегментов тела и локальную дифференцировку отдельных клеток, тканей и органов внутри сегмента (Hombria, Lovegrove, 2003). Спецификация Hox-генами сегментов тела эпигенетически наследуема (см. выше) и эволюционно консервативна. Напротив, функция локальной дифференцировки клеток, тканей и органов внутри сегмента не требует поддержания единой экспрессии *Hox*-генов в пределах сегмента, и эволюционно лабильна у разных видов. Фактически Hox-гены — центральные регуляторы многих генных сетей морфогенеза, чью работу контролируют также компоненты сигнальных каскадов и тканеспецифичные транскрипционные факторы (Hombria, Lovegrove, 2003), а генные сети позднего эмбриогенеза (сеть D на рис. 8) — сложный ансамбль, регулируемый обратными связями, экспрессия различных центральных регуляторов которого разнесена во времени и пространстве.

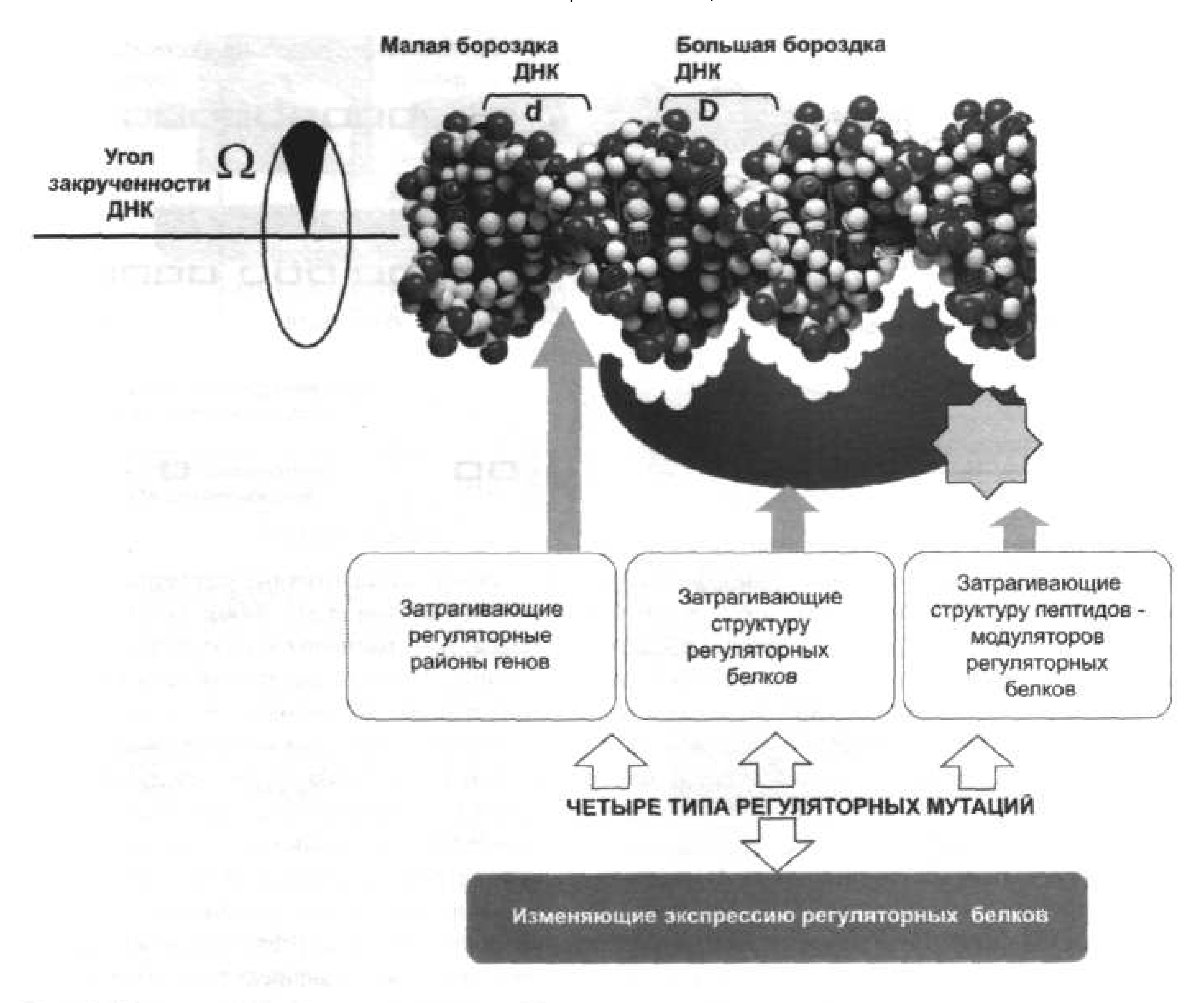


Рис. 7. Четыре типа регуляторных мутаций.

По данным молекулярной филогении, формирование кластера Hox-генов путем дупликаций предкового гена началось до дивергенции кишечнополостных и билатерий (~700-800 млн. лет назад) (Ferrier, Holland, 2001). При этом -600 млн. лет назад (то есть до «кембрийского взрыва») у предполагаемого предка билатерий уже имелось 7 генов в Hox-кластере, что должно было дать его эмбриогенезу сильный морфогенетический потенциал (Peterson, Eernisse, 2001; Balavoine et al., 2002). Контроль эмбриогенеза *Hox*-генами, вероятно, был ароморфозом (Erwin, Davidson, 2002), подготовившим молекулярно-генетическую базу «кембрийского взрыва», обеспечив комбинаторное усложнение генетических программ морфогенеза билатерий как за счет дупликаций Hox-генов, так и усложнением регуляции их продуктов. Например, экспрессия Hox-гена *Ultrabithorax (Ubx) у* насекомых подавляет развитие конечностей (рис. 9), активирует их развитие у онихофор и модулирует развитие конечностей у ракообразных (в частности, *Ubx* рачка артемии репрессировал развитие брюшных конечностей в эмбрионах дрозофилы с 15% эффективностью по сравнению с *Ubx* дрозофилы при одинаковых уровнях экспрессии) (Galant, Carroll, 2002; Ronshaugen et al., 2002).

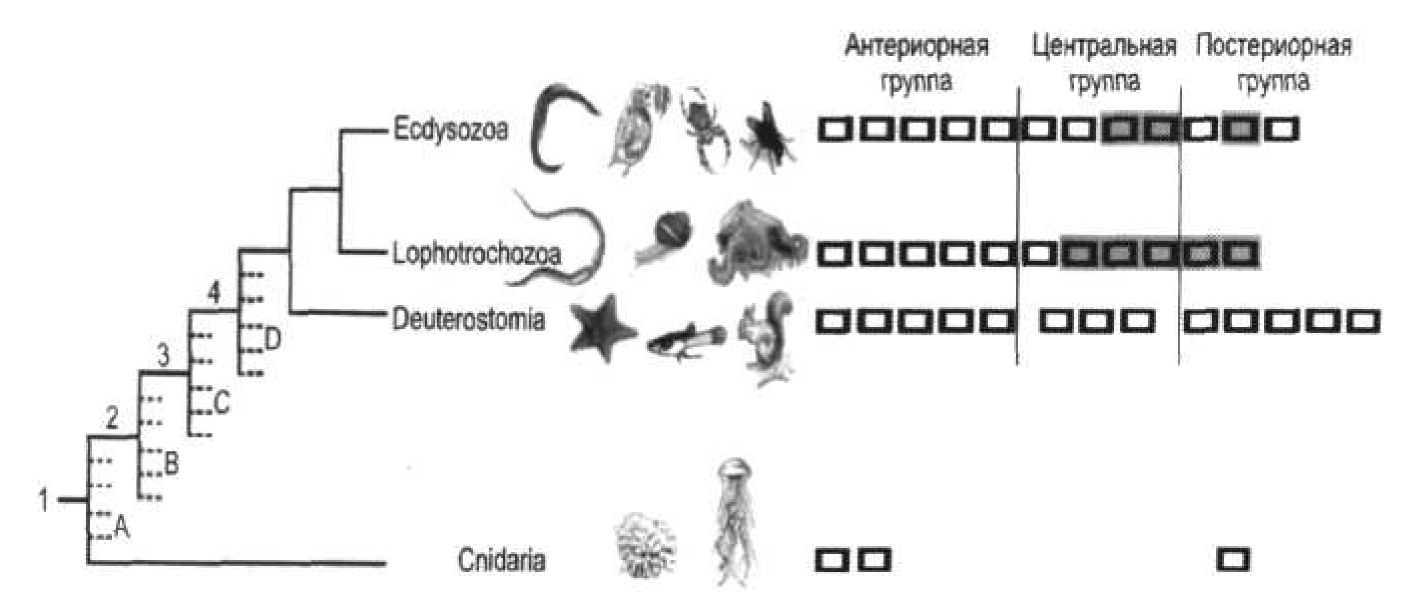


Рис. 8. Эволюция механизмов развития животных. Цифрами обозначены основные ароморфозы, буквами — основные адаптивные радиации, следовавшие за ними (Davidson et al., 1995, Knoll, Carroll, 1999; Peterson et al., 2000): 1) появление генной сети дифференцировки клеток у предков Eumetazoa, A — радиация молекулярных механизмов клеточной дифференцировки ранних многоклеточных; 2) появление генной сети эмбриогенеза с детерминацией бластомеров сразу после оплодотворения (эмбриогенез типа 1, характерный для личинок примитивных первично- и вторичноротых), B — радиация молекулярных механизмов эмбриогенеза ранних билатерий; 3) интеграция генных сетей пролиферации и дифференцировки, давшая клетки, способные к дифференциации в ткани и органы после завершения примитивного эмбриогенеза, C — радиация механизмов взаимодействия генных сетей дифференцировки и регуляции клеточного цикла; 4) появление генных сетей-интеграторов морфогенеза, специализирующих такие клетки *(Hox*-гены и др.), D — радиация механизмов детерминации структур взрослой формы. Эволюционные взаимоотношения между группами Bilateria реконструированы на основе 18S рРНК (Peterson et al., 2001). Справа от древа — распределение *Hox-генов* (прямоугольники) у кишечнополостных и трех основных групп билатерий. По сходству аминокислотных последовательностей *Hox*-гены делят на 3 ортологичные группы — антериорную, центральную и постериорную (разделены на рис. вертикальными линиями). Все 5 генов антериорной группы высококонсервативны. Центральная группа менее консервативна и состоит из 4 генов у первичноротых и 3 генов у вторичноротых. Постериорная группа самая вариабельная и включает до 2 генов у первичноротых и до 3 генов у вторичноротых. Lophotrochozoa и Ecdysozoa имеют 5 и 3 уникальных *Hox*-гена, соответственно (выделены тенью) (Balavoine et al., 2002).

Изучение структуры белка *Ubx* онихофор, насекомых и ракообразных выявило у ракообразных в его С-концевой области дополнительный регуляторный пептид, богатый серином и треонином, входящими в состав консервативных сайтов фосфорилирования. Фосфорилирование этих остатков киназой CKII меняет репрессорную акивность *Ubx* по отношению к формированию конечностей (Ronshaugen et al., 2002). Более того, после фосфорилирования эти остатки формируют добавочные сайты для фосфорилирования как CKII, так и киназой GSK9, что повышает гибкость регуляции морфогенеза конечностей у ракообразных (Fiol et al., 1987). Напротив, ни в одном из *Ubx* белков насекомых С-концевых богатых серином и треонином последовательностей не выявлено, зато удаление С-концевого QA-домена, консервативного у насекомых, снижало эффект репрессии подавления конечностей (Ronshaugen et al., 2002). Таким образом, можно сделать вывод, что в ходе дивергенции артропод, шедшей уже после формирования характерного для *Ecdysozoa* набора *Hox-генов* (Grenier et al., 1997) (см. рис. 8) у предков насекомых началась эволюция регуляторных доменов-коре-гуляторов, заставлявших ЦР тотально подавлять развитие конечностей, тогда как у предков ракообразных преимущественное развитие получили домены с активными сайтами (в данном случае — фосфорилирования), позволяющими модулировать активность белка (Ronshaugen et al., 2002).

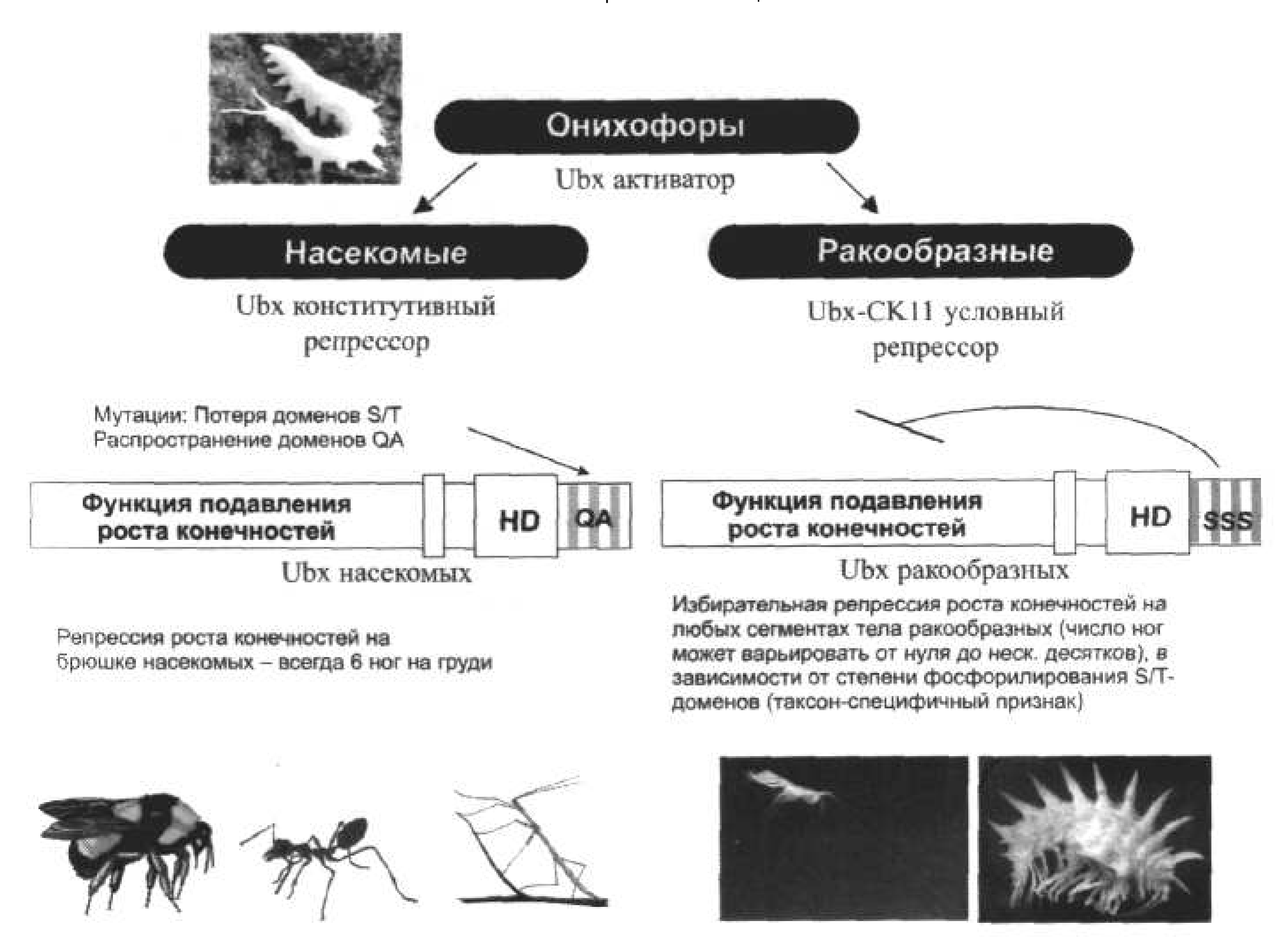


Рис. 9. Эволюция регуляции развития конечностей у различных групп Arthropoda. У мономорфно сегментированных онихофор, организация которых по-видимому близка к предкам членистоногих, ген *Ubx* активирует развитие конечностей. У гетероморфно сегментирован-ныхх насекомых — наоборот, подавляет, а у ракообразных — модулирует. Молекулярные исследования выявили в С-концевой области белка *Ubx* ракообразных дополнительный регуляторный пептид, богатый аминокислотами серии и треонин, входящими в состав консервативных сайтов фосфорилирования (ST-домены). Таким образом, различная степень фосфорилирования меняет репрессорную активность *Ubx* по отношению к формированию конечностей, чем и обеспечивается эволюционная способность ракообразных формировать/терять конечности практически на любом сегменте тела. Напротив, насекомые в ходе эволюции утеряли ST-домены. Распространение доменов QA, усиливающих репрессорную функцию *Ubx* по отношению к формированию конечностей жестко стабилизировало их состав у насекомых (по Grenier et al., 1997; Galant, Carroll, 2002; Ronshaugen et **al.,** 2002).

Изучение закономерностей эволюции активных сайтов белков выявило интересную закономерность: набор аминокислот в окрестностях таких сайтов оптимизирован так, что достаточно одной-двух мутаций, чтобы поменяв несколько аминокислотных радикалов получить новый функциональный сайт (Ivanisenko et al., 2005), причем в зависимости от набора аминокислот данный механизм может как ускорять, так и замедлять эволюцию. Факт ускоренной эволюции N-концевой области морфогенов-паралогов *Inv* и *En,* ответственной за связывание с кофакторами транскрипции, зафиксирован К.В. Гунбиным в ходе исследования молекулярной эволюции генов Hh-каскада передачи сигналов. Следовательно, формирование доменов, модулирующих активность белка ЦР, в сочетании с оптимизацией аминокислотного контекста в активных сайтах таких доменов — распространенный механизм изменения сложных структур, особенно модулирования сложности уже сформировавшихся структур.

Напротив, перепрофилирование ЦР открывает возможность эволюционной перестройки сформировавшихся структур. Перепрофилирование весьма распространено в генных сетях раннего и позднего эмбриогенеза, то есть в сетях, начавших дивергировать очень рано, либо недавно (см. рис. 8). Например, генные сети ранних этапов

становления анте-рио-постериорной оси тела варьируют по компонентам и по связям между ними у разных Bilateria. У *D. melanogaster* эта генная сеть эволюционно молода (~60 млн. лет) (Davis, Patel, 2002). Так, ген материнского эффекта *bed* возник как дупликация генагеи и приобрел современную функцию только у предков высших двукрылых (Stauber et al., 1999). Паттерн экспрессии gap-гена *hb,* определяемый независимо материнской антери-орной *(bed)* и постериорной *(nos)* системами генов, консервативен лишь у насекомых (Wolff et al., 1998). У нематод и аннелид *hb* экспрессируется только в нервной системе (Lall, Patel, 2001).

Замечательный пример перепрофилирования генов в позднем эмбриогенезе демонстрируют нематоды. У разошедшихся не более 200 млн. лет назад родов *Caenorhabditis* и *Pristionchus* (Lee et al., 2003) ген *lin-39* контролирует образование вульвы, активируя совершенно разные генные сети. Одна и та же мутация *lin-39* у *Caenorhabditis* ведет к слиянию клеток вульвы с гиподермальным синцитием, а у *Pristionchus* к апоптозу клеток вульвы. В обоих случаях формируется один и тот же безвульварный фенотип (Sommer et al., 1998) (рис. 10).

Напротив, консервативные паттерны экспрессии гена парного правила *h* и гена сегментной полярности *en* обнаружены практически у всех билатерий (Gibert, 2002; Seaver, 2003). Сеть конечных этапов формирования дорсо-вентральной оси очень консервативна — гены сигнального каскада *dpp/TGF-b* есть у всех билатерий и функционально заменимы (Lall, Patel, 2001). Такой консерватизм является залогом нормальной работы генной сети универсального аппарата спецификации сегментов тела *Hox*-генами и генами сигнальных каскадов. Сравнительные исследования генных сетей развития билатерий выявили общую закономерность: наиболее вариабельными по составу и структуре генных сетей являются ранние стадии эмбриогенеза, менее вариабельны поздние стадии, а самой консервативной является средняя стадия — морфофункциональная спецификация целых сегментов (Richardson 1995; Gilbert et. al., 1996; Richardson et al., 1997; Jeffery et al., 2002; Raff, Sly, 2002; Richardson & Keuck 2002). Аналогичную картину наблюдаем у цветковых растений (Theissen, Saedler, 1995, 2000; Theissen et al., 2000). Таким образом, налицо противоречие с классической картиной филэмбриогенеза, по которой наиболее ранние стадии эмбриогенеза должны быть самыми консервативными, так как от них зависит весь последующий эмбриогенез (Северцов, 1949). Столь серьезные перестройки без ущерба для жизнеспособности могли быть лишь при режиме эволюции, близком к нейтральному, который требует наличия множества параллельных путей развития и мог идти в иерархически построенных генных сетях под защитой высшего уровня иерархии, контролировавшего лишь конечный результат онтогенеза. Теоретические исследования гипотетических генных сетей и реальных генных сетей метаболизма показывают правомочность такого сценария. В сложных генных сетях отбором контролируется лишь «лимитирующее звено» — наиболее быстротекущая реакция. Мутации, вносимые в другие звенья сети, слабо влияют на ее конечное состояние до тех пор, пока скорость реакции в них пренебрежительно мала по сравнению с лимитирующим звеном. Следовательно, подобные системы за время своего существования могут накопить значительный мутационный груз, не теряя свойств эквифинальности. Требование наличия параллельных путей подтверждается прямым исследованием молекулярной эволюции генных сетей эмбриогенеза (Гунбин, 2006). Их ускоренная эволюция начинается, как правило, лишь после образования нескольких паралогов гена, после чего один из пара-логов эволюционирует в ускоренном режиме. Молекулярно-биологические данные как правило дают более ранние оценки времени начала дивергенции различных таксонов, нежели палеонтологические, причем хорошая изученность таких таксонов, как артропо-ды и млекопитающие, не позволяет списать эту разницу на неполноту палеонтологической летописи (Wray et al., 1996; Jong, Bromham et al., 1998; Bromham et al., 1999; Peterson et al., 2000). Интерпретируя этот факт, можно предположить, что перепрофилирование само по себе не приводит к росту биоразнообразия, но эволюция генных сетей в нейтральном режиме формирует преадаптации, которые могут быть впоследствии реализованы при наступлении благоприятных условий.

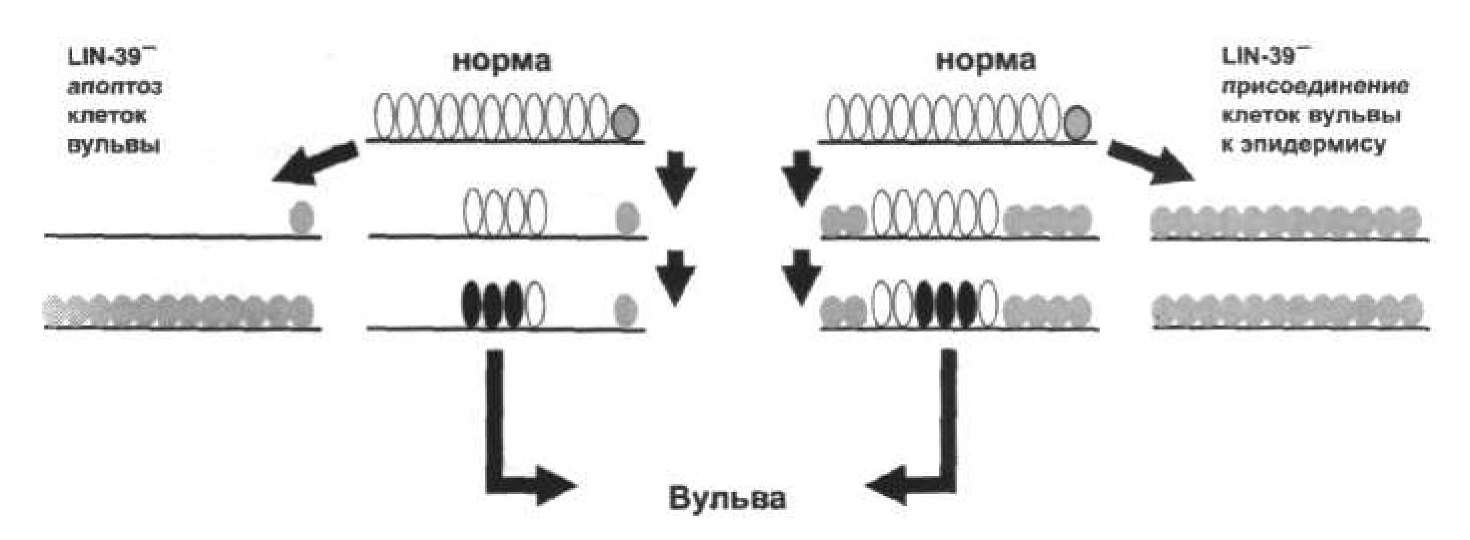


Рис.10. Перепрофилирование генов в позднем эмбриогенезе у нематод. Эмбриогенез нематод характеризуется ранним определением судьбы клеток зародыша. Черные овалы — клетки, идущие на образование вульвы, серые небольшие круги — клетки, дающие начало гиподермальному синцитию. У разошедшихся не более 200 млн. лет назад родов *Caenorhabditis* и *Pristionchus* (Lee et al., 2003) мутация lin-39" блокирует образование вульвы, активируя совершенно разные генные сети. У *Caenorhabditis* (справа) она ведет к слиянию клеток вульвы с гипо-дермальным синцитием. У *Pristionchus* (слева) — к апоптозу клеток вульвы и их замещению гипо-дермальным синцитием. В обоих случаях формируется один и тот же безвульварный фенотип (Sommer et al., 1998).

Быстрый сдвиг морфологии может быть при мутациях в генах сигнальных путей ГС. Тогда ГС неадекватно отвечает на сигналы управления. Центральная зона (ЦЗ) апикальной меристемы арабидопсиса хранит резерв стволовых клеток, дающих листья и цветы. Состав и размер ЦЗ зависят от гена WUS. Коммуникации между WUS и ЦЗ обеспечивают киназы CLV. CLV3 активирует сборку комплекса CLVl/CLV2/KAPP/Rop, подавляющего WUS (Clark, 2001). При мутации любого гена CLV растет экспрессия WUS, меняя размер ЦЗ и морфологию цветов (Fletcher et al., 1999). Теоретически показано, что изменение числа регуляторных связей из-за мутаций может резко менять режим работы ГС, даже не меняя состав ее генов (Лихошвай и др., 2001). Известны мутанты дрозофилы с дополнительными жилками, подобными таковым в древних таксонах: ГС предкового жилкования сохранена, но в определенных местах крыла жилкообразование подавлено (Biehs et al., 1998), возможно, из-за мутации, изменившей режим работы ГС жилкования. Такое изменение режима функционирования генных сетей в результате мутаций позволяет объяснить как многократное закономерное появление и исчезновение сложных признаков в филогенезе, отмеченное палеонтологами для многих таксонов (филоциклы) (Розанов, 1973), так и противоречия, между классической и молекулярной филогенией. Например, в отряде палочников известны крылатые (традиционно считающиеся предковыми) и бескрылые формы, а также формы с разной степенью редукции крыла. Молекулярная филогения палочников говорит, что в основании группы был бескрылый предок, а крылья многократно возникали у разных его потомков. Это возможно, если предположить, что бескрылый общий предок палочников нес мутацию, блокирующую работу генной сети формирования крыла, но не затронувшую ни одного структурного гена, а в разных филумах-потомках шли обратные (нормальные крылья), либо супрессорные (редуцированные крылья) мутации (Whiting et al., 2003). Открытие РНК-интерференции и ее успешное использование для репрессии генов в эксперименте, вместо трудоемкого метода «генетического нокаута», позволяет наметить еще один путь обхода закона необратимости эволюции Долло — подавление трансляции белков - транскрипционных факторов при сохранении их интактных генов. МиРНК может ингибировать трансляцию комплекса генов, образуя аналоги генных сетей-интеграторов (см. ниже)[10] (Hobert, 2004).

(10 О мощности таких сетей говорит тот факт, что по предварительным оценкам гены миРНК составляют примерно 1% генов в геноме человека (Lim et al., 2005), т.е. являются одним из наиболее крупных семейств генов в геноме.)

Так, миРНК JAW подавляют трансляцию 5 генов транскрипционных факторов семейства TCP арабидопсиса, меняя в частности форму листа. Отметим, транскрипция этих генов не менялась (Palatnik et al., 2003). Одна и та же последовательность миРНК может иметь несколько кодирующих ее генов, последовательности которых могут значительно различаться (Griffiths-Jones et al., 2003). Так как мутации генов миРНК нарушают длительность и чередование фаз онтогенеза, основной функцией миРНК считается быстрое удаление мРНК родительской клетки в ее потомках (Reinhart et al., 2002, Rhoades et al., 2002), что критично при смене дифференцировки и в онтогенензе. Дублирование генов миРНК теоретически позволяет эволюционно сформировать пул генов, по-разному регулирующих длительность и время смены фаз развития. Причем, нормальную смену фаз онтогенеза будет регулировать мажорная фракция миРНК, а минорные фракции, интерферируя ее регуляторный эффект, будут приводить к «онтогенетическому шуму» («реализационной изменчивости»; Струнников, 1985), нормально проявляющемуся в варьировании скорости чередования фаз онтогенеза в популяции и лишь в отдельных случаях приводящему к атавизмам. Допустим, новая мутация заблокирует синтез мажорной фракции, либо усилит синтез одной из минорных миРНК. В результате дерегу-ляции онтогенеза может произойти сдвиг закладки органа на более ранние стадии развития, что позволит реализовать давно «спящие» потенции морфогенетических программ. В итоге возможно появления у вида-потомка признака, утраченного его предками на взрослой или даже эмбриональной стадии («вторичная рекапитуляция»), каковые случаи неоднократно описаны морфологами и палеонтологами (Татаринов, 1978)".(11 Некоторыми исследователями допускается еще один механизм обхода закона Долло - коррекция небольших мутаций, повреждающей ДНК гена, по долгоживущему РНК-транскрипту этого гена (Lolle et al., 2005). Можно сказать, что кроме генома (аналог долговременной памяти - на десятки, сотни и миллионы клеточных поколений) существует и «РНКом» (аналог кратковременной памяти — на два-три клеточных поколения). Гипотеза спорная, но интересная.)

Особый интерес представляют мутации в генных сетях с положительными обратными связями, где незначительные мутационные изменения могут приводить к выраженным изменениям фенотипа организмов. Например, ген *tbl* не был

идентифицирован в базе данных по кукурузе, содержащей -100000 EST [12], что говорит о предельно малом количестве его продукта в клетках (Baum et al., 2002).

(12 EST (expressed sequence tag) — короткий участок кДНК, который служит маркером экспрессии гена. Служит для идентификации и картирования генов.)

Роль *tbl* в селекции кукурузы (см. выше), как и сильный фенотипический эффект его мутаций, можно объяснить лишь каскадным усилением по механизму положительной обратной связи в генных сетях онтогенеза. О степени усиления в таких генных сетях дает представление генная сеть программируемой клеточной смерти — апоптоза. Если сравнить молекулярную массу белка *FasL,* запускающего апоптоз, и массу погибшей клетки, то различие составит ~ 10^{10}(Stepanenko, Grigor'ev, 2002; Stepanenko, Kolchanov, 2003)13!

(13 Высочайшая степень усиления в генных сетях с положительными обратными связями вызывает аналогию с сверхкритичными системами, известными в физике и механике. Пример подобной системы — снежная лавина, в которой масса двигающегося снега на много порядков больше массы исходного воздействия.)

Именно регуляторные контуры с каскадами положительных обратных связей, вовлеченные в регуляцию онтогенеза — наиболее вероятные мишени процессов видообразования. Еще один механизм возникновения системных мутаций связан с генными сетями-интеграторами, координирующими ансамбли подчиненных им генных сетей. Пример генной сети-интегратора — сеть локальной дифференцировки внутри сегмента, регулируемая Яох-генами (см. выше). Варьируя интенсивность экспрессии *Ubx* и *abdominal-A,* чешуекрылые способны рекапитулировать образование ногоподобных структур в задних брюшных сегментах гусениц, тогда как у личинок родственных им двукрылых, утративших эту способность в результате мутации, брюшные ложные ноги не формируются (Akam, 1998). Аналогичным образом преобразование плавательных ножек в ногочелюсти у *Isopoda* произошло вследствие изменения паттерна экспрессии *Ubx,* вызвавшего изменение паттерна экспрессии другого Нох-гена — *Scr* [14](Averof, Patel, 1997; Abzhanov, Kaufman, 1999).

14 Отметим, что разная экспрессия гена в разных типах клеток — способ комбинаторного кодирования информации огромной емкости, освоенный многоклеточными эвкариотами.

Пожалуй наиболее универсальным способом роста сложности является полимеризация, широко распространенная как у про- так и у эвкариот. Сюда можно отнести дублирование функциональных сайтов в ДНК (Galant et al., 2002; Kolchanov et al., 2002c) и белках (Ivanisenko et al,, 2005), дублирование стартов транскрипции (в том числе и в нитронах) и стоп-кодонов (Kolchanov et al., 2002c), дупликации и мегадупликации — дупликации протяженных районов геномной ДНК со многими генами, а также коды модуляции функций геномов (Трифонов, 1997), возникающие на базе тандемных повторов. Их модулирующие влияние на функции генов проявляется при изменении числа копий в кластере (Nakamura et al., 1998). Изменение числа повторов в кластерах — наиболее частый тип геномного полиморфизма (Li et al., 2002). Пространственный и временной паттерны экспрессии генов, находящиеся под влиянием повторов, могут изменяться после изменения копийности повторов (Nakamura et al., 1998). В этом случае поиск оптимальных вариантов модуляторов осуществляется гораздо быстрее, чем при точковых мутациях. Элементами кода модуляции геномов являются также диспергированные повторы и мобильные генетические элементы, инсерции которых в различные районы геномов могут приводить к изменению паттерна экспрессии близкорасположенных генов (Brosius, 1999). Согласно теории С. Оно, частный случай полимеризации — дупликация позволяет перепрофилирование системы. На основе одной из дуплицированных копий возможно появление качественно новых свойств у гена или генной сети (Оно, 1973). Теория Оно подтверждена многочисленными исследованиями (Гунбин, 2006)

Но будучи эффективным способом усложнения, полимеризация требует больших размеров генома. Любая популяция имеет верхнюю границу темпов мутирования, превышение которой ведет к гибели. Гаплоидные популяции достигают ее, когда за один цикл репликации возникает как минимум одна деталь на геном. При постоянной частоте мутаций вероятность получить леталь растет с ростом длины генома, которая поэтому должна быть ограничена сверху (Eigen, 1971). Сравнение реальных и теоретически предельных размеров генома бактерий показало, что размеры геномов бактерий близки к предельным (Ратнер и др., 1985; Computer Analysis.., 1994), что ограничивает возможности полимеризации. Преодоление этого запрета путем развития полирепликонной точной репликации и совершенствования механизмов компактизации генома стало главной эволюционной мотивацией появления диплоидных геномов эвкариот, снявших ограничение на размеры геномов до величин порядка 10^{12} пар оснований, что позволило эвка-риотам освоить эндосимбиоз, многоклеточную и многотканевую организацию. По причине важной роли дупликаций в ходе эволюции эвкариот (Rubin et al., 2000; Zhang, 2003), рост числа различных вариантов транскрипции генов может быть связан с широким распространением кластеров изофункциональных генов. Такие кластеры содержат гомологичные гены с частично различающейся структурой и функцией. Экспрессия генов, входящих в состав кластеров, осуществляется в зависимости от стадии индивидуального развития,

функционального состояния организма и т. п. Порядок и интенсивность экспрессии генов может определяться специальным классом регуляторных элементов иерархически высокого (надгенного) уровня — LCR (локус-контролирующими районами). Каждый LCR образован специфической группой ССТФ и располагается иногда на очень большом (до десятков тысяч п.о.) расстоянии от контролируемой кассеты генов[15] (Bulger, Groudine, 1999; Li et al., 2002).

(15 Возможно, LCR могут в некоторых случаях играть роль границ между форум-доменами хромосом, так как ассоциированы с гиперчувствительными сайтами ДНКаз, а форум-домены были открыты при изучении естественной фрагментации хромосом. В таком случае это еще один интересный случай интерференции генетической и эпигенетической регуляции (Tchurikov et al., 1998).)

Существенное затруднение для теории Оно — нейтрализация мутаций в одной из копий дуплицированного гена. Ведь лишь *один* паралог сохраняет исходную функцию, а значит, находится под действием стабилизирующего отбора. Второй паралог может попасть под действие движущего отбора только *после* приобретения новой функции. До этого момента он способен накопить множество мутаций в нейтральном режиме, а значит, высока вероятность его вырождения в псевдоген. Частые рекомбинации между паралога-ми (молекулярный драйв), генная конверсия, либо тесная ассоциация паралогов, предотвращая псевдогенизацию, затрудняют приобретение новой функции. Например, у растений гены API, CAL и FUL имеют сильную гомологию друг с другом, что говорит о происхождении в ходе дупликаций (Kempin et al., 1995). Образуя мультимер, их продукты регулируют экспрессию гена LFY (Irish, Sussex, 1990) — одного из важнейших ЦР генной сети развития цветка, интегрирующего, в частности, генные сети формирования лепестков, чашелистиков, плодолистиков и тычинок. Субъединицы мультимера взаимозаменяемы без особой потери функции. Поэтому мутации в гене API не меняют экспрессию LFY[16] (Weigel et al., 1992), которая существенно меняется лишь при двойной мутации apl cal (Bowman et al., 1993).

(16 Мутации гена API ведут к частичной стерильности соцветия. Одиночные мутации fill, или cal вообще никак не влияют на цветение (Ferrandiz et al., 2000).)

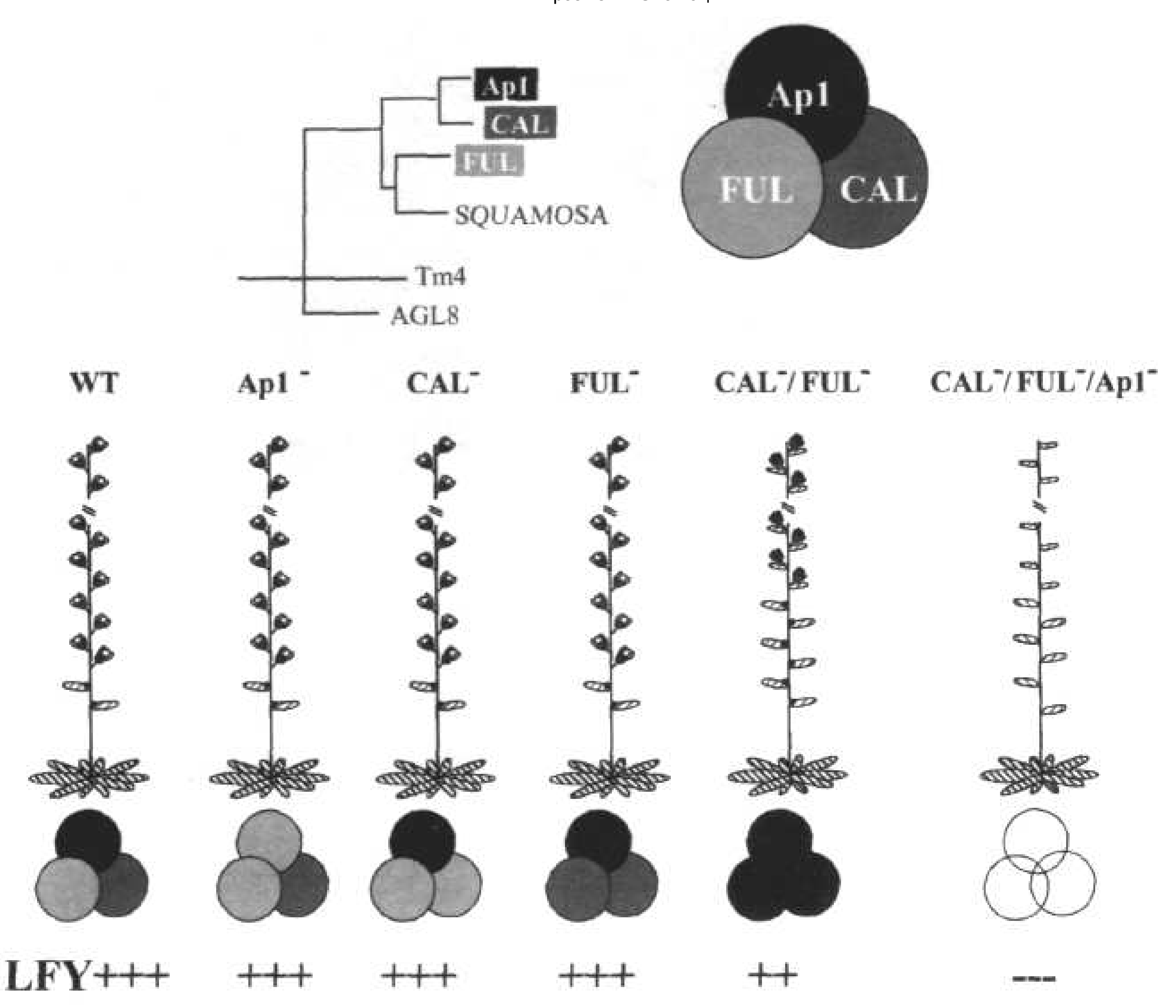


Рис. 11. Тесная функциональная ассоциация паралогов, защищая функцию от мутационных повреждений, может тормозить скорость эволюции. У *Arabidopsis thaliana* гены API, CAL и FUL имеют сильную гомологию друг с другом, что говорит о происхождении их в ходе дупликаций предкового гена (Kempin et al., 1995). Образуя белковый мультимер, в котором продукт каждого гена взаимозаменяем, они регулируют экспрессию гена LFY (Irish, Sussex, 1990) — одного из важнейших центральных регуляторов генной сети развития цветка. В результате, лишь тройной мутант apl cat fill теряет способность к цветению (Weigel et al., 1992, Bowman et al., 1993).

Тем не менее, растение еще может цвести. Лишь тройной мутант apl cal fill не цветет, и экспрессия LFY в нем сильно изменена (рис. 11). Налицо не запуск, а, наоборот, торможение эволюции. Консервативная роль подобных дупликаций, защищающих генные сети морфогенеза от мутаций ЦР, разрушительный эффект которых демонстрируют гомеозисные мутации, ярко показан в эксперименте с трансгенезом цветущих на 6-20 году жизни цитрусовых геном API под конститутивным промотором. Трансгенез вызвал цветение на первом году без аномалий морфологии (Репа et al., 2001) (рис. 12). Наличие резервных регуляторов для LFY делает достаточно слабым морфогенетический эффект отдельных мутаций. А вот высокая гомология приводит к высокой эффективности трансгенеза, при котором высоко экспрессирующийся мономер может в дополнение к гетеромерным белковым комплексам формировать гомомерные белковые комплексы. Таким образом, эволюционное изменение произошло, но вследствие нарушения динамики онтогенеза, а не вследствие смены функций паралогов. Продолжая функционировать, ГС морфогенеза сохранили жизнеспособность и фертильность мутанта. Цветение древесных форм цветковых на стадии проростка, породившее травы (Тахтаджян, 1961), могло быть следствием подобных мутаций (рис. 13). Другой пример защитной роли полимеризации — регулятор-ный домен *Ubx* ракообразных с множеством сайтов фосфорилирования (Ronshaugen et al, 2002). По-видимому, их число в ходе эволюции менялось постепенно,

вызывая постепенную смену морфологии, предотвращая появление «монстров», чья перспективность для эволюции должна была, по опыту гомеозисных мутаций, резко уменьшаться из-за низкой жизнеспособности и фертильности.



Рис. 12. Трансгенез цветущих на 6-20 году жизни цитрусовых геном AP1 *Arabidopsis thaliana* под конститутивным промотором. В результате растение зацвело на первом году без аномалий морфологии (по Pena et al., 2001).



Рис. 13. Происхождение травянистых форм цветковых растений в результате неотении (Тахтаджян, 1961) могло быть следствием мутаций генов центральных регуляторов генных сетей развития цветка.

А

Мутации, не элиминируемые отбором

Вид-потомок 1

Вид-потомок 2

Т

ПСЕВДОГЕН

ГЕН А1 ГЕН А2 ГЕН А

ФУНКЦИЯ -2

ФУНКЦИЯ -1

ГЕН А

ФУНКЦИЯ -1

Предковый вид

Б

Разнесение экспрессии во времени и/или пространстве

Вид-потомок 1

Вид-потомок 2

Т

ГЕН А2

ГЕН А1 ГЕН А2 ГЕН А

ФУНКЦИЯ -2

ФУНКЦИЯ -1

ГЕН А

ФУНКЦИЯ -1

Предковый вид

Рис. 14. Дупликация гена необходима для появления у него новых функций (Оно, 1973). В то же время дупликация выводит из под отбора одну из копий гена, благоприятствуя накоплению в ней мутаций, ведущих, в конечном счете, к псевдогенизации (Родин и др., 2005). Парадокс разрешает лишь функциональная нагрузка обоих паралогов, что возможно при разнесении экспрессии пара-логов во времени (экспрессия на разных стадиях развития) и в

пространстве (экспрессия в разных органах и тканях).

Псевдогенизацию может предотвратить лишь функциональная нагрузка обоих паралогов, что возможно при разнесении экспрессии паралогов во времени (экспрессия на разных стадиях развития) и в пространстве (экспрессия в разных органах и тканях) (рис. 14). Это часто наблюдается в генных сетях морфогенеза. Так, смена тканеспецифичности в эволюции изучена у кукурузы: ген pi, экспрессирующийся в перикарпе зерна, стержне початка, нижних цветковых чешуях метелки и в шелке (столбики початка кукурузы), и ген p2, экспрессирующийся в шелке и пыльниках, — потомки гена, дуплицированного 2,75 млн. лет назад (Zhang et al., 2000). Другой хорошо изученный пример - кластеры изофункциональ-ных генов. У многоклеточных с их обилием тканей и большими размерами гораздо больше шансов разнести экспрессию паралогов во времени и пространстве: лишь 8% генов у дрожжей остаются дуплицированными, остальные 92% возвращаются к состоянию одной копии, а у позвоночных, в среднем, остаются дуплицированными 50% генов (Prince, Pickett, 2002).

Разнесение во времени и пространстве возможно за счет любого из трех вышеупомянутых типов мутаций, меняющих работу генных сетей. Таким образом, только такие мутации, причем, последовавшие достаточно быстро вслед за образованием паралогов, могут провоцировать прогрессивную эволюцию путем смены функций по Оно. Четвертый тип — перепрофилирование ЦР — сам по себе не снимает проблему псевдогенизации, требуя внешних дополнительных воздействий (эволюция, позволяющая раскрыть потенции преадаптаций). Специфическим перепрофилированием может быть превращение паралога в ген-регулятор, контролирующий второй паралог (например, при считывании киРНК с псевдогена) (McCarrey, Riggs, 1986; Балакирев, Айяла, 2004). Тест на нейтральность эволюции демонстрирует существенное отклонение режима эволюции некоторых «псевдогенов» от нейтрального, свидетельствуя об их функциональной нагрузке. Прорыв последнего десятилетия в изучении транскриптомов позволил выявить минорные фракции нормально сплайсиро-ванных транскриптов последовательностей, считавшихся псевдогенами (Балакирев, Айяла, 2004). Тем не менее, до сих пор наиболее изученными примерами роли псевдогенов в эволюции служат комплексы типа гена *vlhA* с его псевдогенами у *Mycoplasma synoviae.* Рекомбинация и генная конверсия в нем обеспечивают повышенную изменчивость антигенов поверхностных белков, уводя паразита от иммунного ответа. Хотя в данном случае повышение биоразнообразия налицо, о прогрессивной эволюции говорить трудно, скорее это эволюционное «топтание на месте» (Noormohammadi et al., 2000).

Значительная роль эпигенетических механизмов в регуляции тканеспецифичной, онтогенез-специфичной и даже родитель-специфичной экспрессии (см. табл. 1) позволила предположить ее важную роль в предотвращении псевдогенизации паралогов, а следовательно и в прогрессивной эволюции (Родин и др., 2005). Даже простое изменение расположения генов в форум-домене в результате дупликации может привести к различной эпигенетической разметке обоих паралогов. Другим механизмом различения эпигенетической регуляции может служить изменение расположения паралогов относительно каких-либо регуляторных участков [17](Чуриков, 2005).

(17 Учитывая, что эпигентическая разметка, в отличие от генетической регуляции, может стираться под влиянием среды (например, холодовой импринтинг) (Kohler, Grossniklaus, 2002; Bastow et al., 2004), а точность восстановления ее не стопроцентна (за исключением, пожалуй, морфофункци-ональной спецификации сегментов в онтогенезе), можно предположить, что аномально частые изменения внешней среды, стохастически меняя разметку паралогов, могут спровоцировать их различную регуляцию. Изученным аналогом такого эволюционного сценария могут служить, например, стохастические нарушения импринтинга, приводящие к аномалиям развития, но не передающимся по наследству (Jaenisch et al., 2005). Важно отметить, что различие в эпигенетической регуляции само по себе не ведет к эволюции паралогов. Их дивергенция — всецело следствие накопленных в них мутаций. Различная эпигенетическая регуляция лишь нарушает нейтрализацию таких мутаций, время от времени вводя их в сферу отбора. Такая концепция согласуется также с ранее высказанной идеей об эволюционной роли фенотипической супрессии, вызванной прионизацией (Инге-Вечтомов, 1998, 2000).)

Внешние и внутренние факторы эволюции: интерференция эволюции генных сетей и экосистем

Как возникают и усложняются регуляторные системы в эволюции? Рассмотрим простейший контур с отрицательной обратной связью (ООС), регулирующий концентрацию белка. Любое отклонение концентрации белка от нормы отслеживается регуляторным звеном ООС, компенсирующим его путем изменения скорости биосинтеза белка (эффекторное звено ООС). Причем контуру безразлична природа факторов, приводящих к отклонениям от нормы. Следовательно, ООС минимизирует фенотипическое проявление мутаций, «обнейт-раливает» их, выводя из-под действия отбора. Теоретически показано, что чем сильнее ООС, тем сильнее эффект обнейтраливания и тем меньше величина фенотипической изменчивости в популяции. Стабилизирующий отбор благоприятствует в популяции таксонам с ООС (рис. 15 А), преимущественно фиксируя ООС высокого уровня иерархии, что ведет к росту

иерархии регуляторных систем. При этом на нижних уровнях иерархии накапливаются мутации, эволюционирующие в нейтральном режиме (Колчанов, Шиндялов, 1991).

Фенотипический эффект обнейтраленных мутаций (ОМ) лишь скомпенсирован ООС. Другой класс мутаций со скомпенсированным эффектом — условно нейтральные мутации — двойные мутации, компенсирующие фенотипический эффект друг друга[18] (Алешин, Петров, 2003).

18 Генотипическая супрессия у микроорганизмов, скоординированные замены в белках и рРНК, молекулярный драйв.

Одновременное появление таких мутаций маловероятно, но появление одной вредящей мутации повышает вероятность фиксации компенсирующей ее мутации (Афонников, Колчанов, 2001; Afonnikov et al., 2001).

(Кстати, отмеченная выше комплексность центральных регуляторов должна способствовать накоплению в них условно-нейтральных мутаций.)

В отличие от условно нейтральных мутаций, ОМ не являются двойными, их фенотипическая нейтральность не зависит от конкретных молекулярных механизмов, и они не влияют на вероятность фиксации мутаций, увеличивающих мощность обнейтраливающего их контура ООС.

Превышение пределов их мощностей выводит часть ОМ под отбор. Это может быть следствием изменения внешней среды или/и груза мутаций в регуляторном контуре. Пусть пучок таксонов, претерпевших долгий стабилизирующий отбор в разных экологических нишах, имеет регуляторные контуры с ООС, унаследованный от общего предка. За равное время эволюции он накопит в обоих таксонах примерно равный груз ОМ. Пока мощность контура велика, ОМ не проявляются, а таксоны эволюционно стабильны. При приближении груза к «точке насыщения» пучок таксонов выходит из стазиса: ОМ должны начать проявляться при слабых колебаниях среды. Если в разных нишах эти колебания различны, будет различна и эволюционная судьба таксонов. В худшем случае, все вымрут одновременно[20] — произойдет «катастрофа».

(20 Возможен и «цепной» сценарий: первым эволюционную стабильность теряет вид, с регулятор-ным контуром, наиболее насыщенным грузом ОМ. Его гибель, или выход из стазиса ухудшает условия для других видов, регуляторные контуры которых тоже не выдерживают, и т.д.)

Значит, долгий стабилизирующий отбор в экосистемах с низким таксономическим разнообразием может вести к кризису и вымиранию близкородственных таксонов-доминантов. Казалось, «живые ископаемые» этому сценарию противоречат: их существование объясняют стабильностью среды, а значит—долгим стабилизирующим отбором. Это не совсем так. Часть «живых ископаемых» населяет стации с циклическими изменениями, где вектор отбора быстро менялся, не допуская специализации. Так, север Европы, с его частыми сменами ледниковий и межледниковий, населяют виды с наиболее генерализованной морфологией [21] (Dynesius, Jansson, 2000).

(21 Напротив, темпы молекулярной и биохимической эволюции «живых ископаемых» сравнимы с таковыми у форм с эволюционно молодой морфологией (Антонов, 2000), что согласуется с помехоустойчивостью ГС морфогенеза (Репа, 2001), показывая, что возможна эволюция под действием движущего отбора при сохранении генерализованной морфологии.)

При дизруптивном или движущем отборе ситуация противоположна: преимущество получают таксоны без ООС (Колчанов, Шиндялов, 1991) (рис.15 Б). При этом таксоны, утерявшие ООС, будут взрывообразно демонстрировать спектр накопленных ОМ -произойдет гиперманифестация изменчивости и может появиться когорта молодых таксонов (Колчанов, 2003). Конечно, не все эти мутации будут адаптивны в новых условиях, поэтому за взрывом изменчивости должно наблюдаться вымирание вновь образованных таксонов, интенсивность которого падает со временем. Таксоны, пережившие вымирание, вступают в стазис. Именно такую картину и удалось наблюдать палеонтологам для когорт таксонов морских организмов фанерозоя (Марков, 2000).

Таким образом, стабилизирующий и движущий/дизруптивный отборы противоположным образом влияют на регуляторные системы организмов, что приводит к так называемым эволюционным качелям. Поочередно при стабилизирующем отборе происходит возникновение и усиление ООС, а при движущем отборе — ослабление или разрушение некоторых ООС (Колчанов, 2003). Спектр мутаций, среди которых есть вредные, нейтральные, инадаптивные и адаптивные, должен фиксироваться в геномах таксонов в период стазиса в нейтральном режиме. В процессе захвата новой экологической ниши (или изменения старой) происходят слом контура ООС и гиперманифестация изменчивости, после чего таксоны с вредными мутациями быстро вымирают, следом за ними в ходе отбора постепенно вымирают или вытесняются в другие экологические ниши таксоны с инадаптивными

мутациями. Если это действительно так, то фиксация практически всего спектра адаптивных для новой ниши мутаций должна проходить за короткое время и именно в периоды заселения (формирования) новых экологических ниш, что подтверждают эксперименты Элены и Ленски (Elena, Lenski, 1997, 2003).

Регуляторные контуры с ООС широко распространены в природе. Они выявляются на всех уровнях организации живого — от молекулярно-генетического до экосистемно-го. Следовательно, феномен эволюционных качелей должен наблюдаться и на экосис-темном уровне. Смена стадий когерентной и некогерентной[22] эволюции (Красилов, 1986), проходящая через вымирание доминирующих видов экосистемы (аналог слома регуля-торного контура высшего иерархического уровня), вследствие чего свой эволюционный потенциал проявляют таксоны-субдоминанты (аналог обнейтраленных мутаций), по-видимому, является аналогом эволюционных качелей в экосистемах.

(22 Когерентная эволюция происходит под контролем складывающейся устойчивой структуры экологического сообщества, в условиях острой конкуренции. Некогерентная эволюция, наоборот, идет в условиях распадающейся экологической системы и ослабленной конкуренции (Красилов, 1986).)

Пусть ГС в ходе эволюции может перестраиваться лишь с определенной скоростью (скорость эволюционного ответа — СЭО), задаваемой ее структурой, природой ЦР (моно-или мультимеры) и общими показателями (средняя частота мутирования, скорость смены поколений, плата за отбор). Эволюционные качели будут наблюдаться, если СЭО выше скорости смены стабилизирующего отбора на движущий. Если СЭО отстает, то мутации просто не успевают фиксироваться. Тогда виду выгодно «размыть» норму реакции — есть вероятность, что у части особей случайно будет необходимое в данный момент значение признака. Размыть норму реакции можно, увеличив размах модификаци-онной изменчивости (1), дезинтегрировав большую ГС на несколько мелких (2), введя в ГС полжительную обратную связь, усиливающую слабые стохастические возмущения в регуляции онтогенеза (3) или за счет формирования ГС стресс-ответа (4).

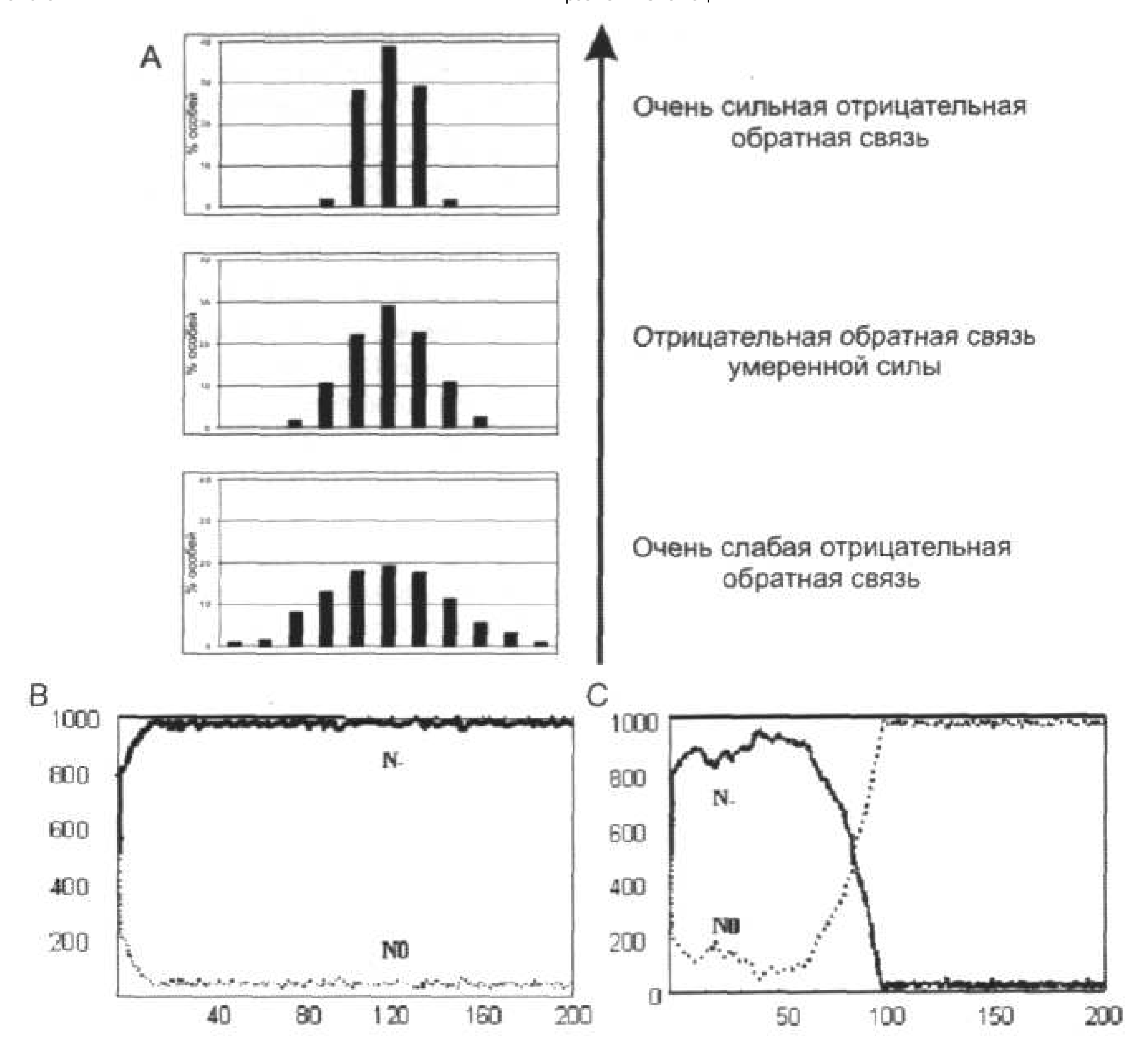


Рис. 15. Роль отрицательных и положительных обратных связей в эволюции (см. текст). A — Качественная картина «обнейтраливания» мутационного спектра под действием отрицательной обратной связи (по оси x — спектр фенотипической изменчивости, по оси y — частота особей определенного фенотипического класса) (Колчанов, 2003). B, C — конкуренция особей с отрицательной обратной связью (N-) и без нее (N0) в ходе эволюции популяции под действием стабилизирующего отбора (B) и под действием движущего отбора (C) (Колчанов, Шиндялов, 1991). По оси x отложено количество эволюционных шагов, по оси y — число особей (численность популяции постоянна — 1000 особей). В начальный момент 50% особей имеют контур с отрицательной обратной связью (N-) и 50% особей не имеют такого контура (N0) (Колчанов, Шиндялов, 1991).

Организация ГС проявляется в фенотипе как скоррелированность признаков, образование корреляционных плеяд, радикалов (Вавилов, 1967). В эволюции корреляционные плеяды начинают формироваться, когда на ранее независимые признаки начинает действовать общий фактор отбора (Берг, 1993а, б). В ходе коэволюции стабилизирующий отбор будет поддерживать смену функциональной связи на генетически закрепленную (Камшилов, 1939; Шмальгаузен, 1968), то есть формировать ГС. По мере повышения стабильности этой ГС в ходе стабилизирующего отбора она может начать за счет случайных транслокаций сайтов ТФ «перетягивать» гены из других, менее стабильных ГС. Если при этом протекание онтогенеза станет более независимым от влияний внешней среды, то стабилизирующий отбор поддержит это процесс, начнется автономизация плеяды признаков от внешней среды (Шмальгаузен, 1968). Теперь при изменении среды вид уже не сможет быстро поменять свой онтогенез — СЭО замедлится, и вид либо вымрет, не сумев приспособиться, либо найдет *адаптивный компромисс* (Расницын, 1987, 2002) между требованием среды и морфологией плеяды, либо сформирует собственный вектор эволюции, заданный морфологией плеяды[23],

(23 Палеонтология знает примеры поразительно устойчивых тенденций появления в фенотипе таксонов конкретных морфологических плеяд, несмотря на изменения среды (Розанов, 1973).)

запустив филоценогенетические процессы образования собственной экосистемы (Жерихин, 1997). Впоследствие уже экосистемные связи будут обеспечивать стабильность среды *(биоценотическая среда;* Разумовский, 1981), позволяя виду существовать в условиях, адаптированных к плеядам его фенотипа. Таким образом, в ходе эволюции биогеоценозов может наблюдаться своеобразная эстафета векторов стабилизирующего отбора: первоначально сложившись на уровне экосистемы как устойчивое сочетание факторов среды, стабилизирующий отбор формирует плеяду-ГС, которая, в свою очередь, начинает выступать как фактор стабилизирующего отбора.

Выражаем благодарность сотрудникам лабораторий теоретической генетики и молекулярной эволюции ИЦиГ СО РАН, а также особую признательность Н.А. Омельянчук, К.В. Гунбину и А.В. Харкевичу за помощь в подготовке статьи.

Работа поддержана грантами: РФФИ 03-04-48506-а, РФФИ 03-01-00328, интеграционными проектами СО РАН № 119, СО РАН № 142, СО РАН № 145, СО РАН № 148, проектом «Описание и анализ биоразнообразия динамики экосистем Сибири с использованием информационных технологий», программы РАН по биоразнообразию (12.4), проектом «Компьютерное моделирование и экспериментальное конструирование генных сетей», программой РАН по физико-химической биологии (10.4) и проектом «Происхождение и эволюция биосферы» программы Президиума РАН.

Литература

Алешин В.В., Петров Н.Б. 2003. Условно нейтральные признаки // Природа. № 12. С. 25-34. Ананько Е.А., Игнатьева Е.В., Колпаков Ф.А. и др. 2000. Молекулярные механизмы регуляции экспрессии генов эукариот // Современные концепции эволюционной генетики / Шумный В.К., Маркель А.Л. (ред.). Новосибирск: ИЦиГ СО РАН. С. 224-242.

Антонов А.С. 2000. Растения и животные — «живые ископаемые» // Природа. № 10. С. 73-78.

Афонников Д.А., Колчанов Н.А. 2001. Консервативные особенности ДНК-связывающих доменов класса «гомеодомен», обусловленные коадаптивными заменами аминокислотных остатков //Докл. РАН. Т. 380. № 5. С. 691-695.

Балакирев Е.С., Айяла Ф.Дж. 2004. Псевдогены: консервация структуры, экспрессия и функции // Журн. общ. биол. Т. 65. № 4. С. 306-321.

Берг Р. Л. 1993а. Корреляционные плеяды и стабилизирующий отбор // Генетика и эволюция. Избр. труды. Новосибирск: Наука. С. 137-178.

Берг Р.Л. 19936. Э кологическая интерпретация корреляционных плеяд // Генетика и эволюция. Избранные труды. Новосибирск: Наука. С. 123-137.

Бердников В.А. 1990. Основные факторы макроэволюции. Новосибирск: Наука. 253 с.

Вавилов Н.И. 1967. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости // Избранные произведения в двух томах. Т. 1. Л.: Наука. С. 7-61.

Бельков В.В. 2002. Новые представления о молекулярных механизмах эволюции: стресс повышает генетическое разнообразие // Мол. биология. Т. 36. №2. С. 277-285.

Гунбин К.В., Колчанов НА. в печати. Ароморфозы и адаптивная молекулярная эволюция: Hh-каскад сигналов.

Грант В. 1991. Эволюционный процесс. М.: Мир. 488 с.

Жерихин В.В. 1997. Основные закономерности филоценогенетических процессов (на примере неморских сообществ мезозоя и кайнозоя) // Докт. диссерт. в форме научного доклада / http://macroevolution.narod.ru

Заварзин Г.А. 2003. Лекции по природоведческой микробиологии. М.: Наука. 348 с.

Инге-Вечтомов С.Г. 2000. Прионы дрожжей и центральная догма молекулярной биологии // Вестн. РАН. Т. 70. № 4. С. 299-306.

Инге-Вечтомов С.Г. 1998. Общая биология и частная генетика прионов // Вестник ВОГиС Т. 2. № 4. http://www.bionet.nsc.ru/vogis/vestnik.php?f=1998&p=4_2

Камшилов М.М. 1939. Отбор как фактор, меняющий зависимость признака от изменений внешних условий // Докл. АН СССР. Т. 23. № 4. С. 361-364.

Колмогоров А.Н. 1965. Три подхода к определению понятия количества информации // Проблемы передачи информации. Т. 1. № 1. С. 3-11.

Колчанов Н.А. 2003. Эволюция регуляторных генетических систем // Теоретический семинар геологов и биологов «Происхождение и эволюция живых систем», Горный Алтай, стационар «Денисова пещера», на сайте: Происхождение и эволюция живых систем, http:// www.bionet.nsc.ru/live

Колчанов Н.А., Ананько Е.А., Колпаков Ф.А. и др. 2000. Генные сети // Мол. биология. Т. 34. № 4. С. 533-544.

Колчанов Н.А., Суслов В.В., Шумный В.К. 2003. Молекулярная эволюция генетических систем // Палеонтол. журн. № 6. С. 58-71.

Колчанов Н.А., Шиндялов И.Н. 1991. Теоретическое исследование эволюции регуляторных контуров при различных типах отбора // Проблемы генетики и теории эволюции / Шумный В.К., Колчанов Н.А., Рувинский А.О. (ред.). Новосибирск: Наука. С. 268-279.

Красилов В.А. 1986. Нерешенные проблемы теории эволюции. Владивосток: ДВНЦ АН СССР. 138с.

Лихошвай В.А., Матушкин Ю.Г., Фадеев С.И. 2001. О связи графа генной сети с качественными режимами ее функционирования // Мол. биология. Т. 35. № 6. С. 1080-1087.

Малаховская Я.Е., Иванцов А.Ю. 2003. Вендские жители Земли. Архангельск: ПИН РАН. 48. с.

Марков А.В. 2000. Возвращение Черной Королевы, или закон роста средней продолжительности существования родов в процессе эволюции // Журн. общ. биол. Т. 61. № 4. С. 357-369.

Марков А.В. 2001. Новый подход к моделированию динамики разнообразия фанерозойской морской биоты // Журн. общ. биологии. Т. 62. № 6. С. 460-471.

Марков А.В., Куликов А.М. 2005. Происхождение эвкариот: выводы из анализа белковых гомологии в трех надцарствах живой природы // Происхождение и эволюция биосферы. Новосибирск: ИК РАН. С. 86.

Михайлова И.А., Бондаренко О.Б., Обручева О.П. 1989. Общая палеонтология. М.: Изд-во МГУ. 384с.

Оно С. 1973. Генетические механизмы прогрессивной эволюции. М.: Мир. 227 с.

Разумовский С.М. 1981. Закономерности динамики биогеоценозов. М.: Наука. 231 с.

Расницын А.П. 1987. Темпы эволюции и эволюционная теория (гипотеза адаптивного компромисса) // Эволюция и биоценотические кризисы. М.: Наука. С. 46-64.

Расницын А.П. 2002. Процесс эволюции и методология систематики // Труды Русск. энтомол. о-ва. Спб. Т. 73. С. 1-108. http://macroevolution.narod.ru

Ратнер В.А. Жарких А.А., Колчанов Н.А. и др. 1985. Проблемы теории молекулярной эволюции. Новосибирск: Наука. 260 с.

Родин С.Н., Пахомчук Д.В., Риггс А.Д. 2005. Эпигенетические изменения и репозиционирование определяют эволюционную судьбу дуплицированных генов // Биохимия. Т. 70. № 5. С. 680-689.

Рожнов С.В. 2005. Морфологические закономерности становления и эволюции высших таксонов иглокожих // Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М.: Т-во научн. изд. КМК. С. 156-170.

Розанов А.Ю. 1973. Закономерности морфологической эволюции археоциат и вопросы ярусного расчленения нижнего кембрия. М.: Наука. 164 с.

Северцов А.Н. 1949. Собрание сочинений. Т. 5. М.: Изд-во АН СССР. С. 453-537.

Симпсон Дж.Г. 1948. Темпы и формы эволюции. М.: Изд-во иностр. лит. 369 с.

Соколов Б. С., Федонкин М. А. 1988. Ранние этапы развития жизни на земле. Современная палеонтология. Т. 2. М.: Недра. С. 118-141.

Соловьев В.В., Колчанов Н.А. 1985. Экзон-интронная структура генов эукариот может быть обусловлена нуклеосомной организацией хроматина и связанными с ней особенностями регуляции экспрессии генов //Докл. АН СССР. Т. 284. № 1. С. 232-237.

Спирин С.В. 1986. Структура рибосомы и синтез белка. М.: Высш. школа. 303 с.

Стегний В.Н. 1991. Системная реорганизация генома при видообразовании // Проблемы генетики и теории эволюции. Новосибирск: Наука. С. 242-252.

Суслов В.В., Колчанов Н.А., Сергеев М.Г., в печати. Молекулярно-генетические механизмы процессов формирования биоразнообразия // Биологическое разнообразие и динамика экосистем: информационные технологии и моделирование / Н.А. Колчанов, Ю.И. Шокин (ред.). Новосибирск: Наука.

Татаринов Л.П. 1987. Очерки по теории эволюции. М.: Наука. 251 с.

Тахтаджян А.Л. 1961. Происхождение покрытосеменных растений. М.: Высшая школа. 133 с.

Трифонов Э.Н. 1997. Генетическое содержание последовательностей ДНК определяется суперпозицией многих кодов // Мол. биология. Т. 31. № 4. С. 759-767.

Фогель Ф., Мотульски А. 1990. Генетика человека. М.: Мир. 366 с.

Чуриков Н.А. 2005. Молекулярные механизмы эпигенетики // Биохимия. Т. 70. № 4. С. 493-513.

Шестаков С.В. 2003а. О ранних этапах биологической эволюции с позиции геномики // Палеонтол. журн. № 6. С. 50-57.

Шестаков С.В. 20036. Роль горизонтального переноса генов в эволюции //Доклад, прочитанный на теоретическом семинаре геологов и биологов «Происхождение живых систем». 15-20 августа 2006 г., Горный Алтай, стационар «Денисова пещера», http://www.bionet.nsc.ru/live/ liveprint.php?f=doclad&p=shestakov

Abzhanov A., Kaufman T.C. 1999. Novel regulation of the homeotic gene Scr associated with a crustacean leg-to-maxilliped appendage transformation // Development. Vol. 126. No. 6. P. 1121-1128.

Afonnikov D.A., Oshchepkov D.Yu., Kolchanov N.A. 2001. Detection of conserved physico-chemical characteristics of proteins by analyzing clusters of positions with co-ordinated substitutions // Bioinformatics. Vol. 17. No. 11. P. 1035-1046.

Agalioti T., Chen G., Thanos D. 2002. Deciphering the transcriptional histone acetylation code for a human gene // Cell. Vol. 1 11. No. 3. P. 381-392.

Akam M. 1998. *Hox* genes, homeosis and the evolution of segment identity: no need for hopeless monsters // Int. I Dev. Biol. Vol. 42. No. 3. P. 445-451.

Ameisen J.C. 2002. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years // Cell Death and Differentiation. Vol. 9. No. 4. P. 367-393.

Arnaud P., Monk D., Hitchins M. et al. 2003. Conserved methylation imprints in the human and mouse GRB10 genes with divergent allelic expression suggests differential reading of the same mark // Hum. Mol. Genet. Vol. 12. No. 9. P. 1005-1019.

Averof M., Patel N.H. 1997. Crustacean appendage evolution associated with changes in *Hox* gene expression //Nature. Vol. 388. No. 6643. P. 682-686.

Bab I., Smith E., Gavish H. et al. 1999. Biosynthesis of osteogenic growth peptide via alternative translational initiation at AUG85 of histone H4 mRNA // J. Biol. Chem. Vol. 274. No. 20. P. 14474-14481.

Balavoine G., de Rosa R., Adoutte A. 2002. *Hox* clusters and bilaterian phylogeny // Mol. Phylogenet. Evol. Vol. 24. No. 3. P. 366-373.

Baranov P.V., Gesteland R.F., Atkins J.F. 2002. Receding: translational bifurcations in gene expression // Gene. Vol. 286. No. *1*. P. 187-201.

Bartel D.P. 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function // Cell. Vol. 116. No. 2. P. 281-297.

Bastow R., Mylne J.S., Lister C. et al. 2004. Vernalization requires epigenetic silencing of FLC by histone methylation // Nature. Vol. 427. No. 6970. P. 164-167.

Baum D.A., Doebley J., Irish V.F., Kramer E.M. 2002. Response: Missing links: the genetic architecture of flower and floral diversification // Trends Plant Sci. Vol. 7. No. 1. P. 31-34.

Biehs B., Sturtevant M. A., Bier E. 1998. Boundaries in the *Drosophila* wing imaginal disc organize vein-specific genetic programs // Development. Vol. 125. No. 21. P. 4245-4257.

Black D.L. Protein diversity from alternative splicing: a challenge for bioinformatics and post-genome biology // Cell. 2000. Vol. 103. No. 3. P. 367-370.

Bonifer C. 1999. Long-distance chromatin mechanisms controlling tissue-specific gene locus activation // Gene. Vol. 238. No. 2. P. 277-289.

Bowman J., Alvarez J., Weigel D. et al. 1993. Control of flower development in Arabidopsis thaliana by APETALA1 and interacting genes // Development. Vol. 119. No. 3. P. 721-743.

Bromham L., Phillips M.J., Penny D. 1999. Growing up with dinosaurs: molecular dates and mammalian radiation // Trends Ecol Evol. Vol. 14. No. 3. P. 113-118.

Brosius J. 1999. Genomes were forged by massive bombardments with retroelements and retrose-quences // Genetica. Vol. 107. No. 1-3. P. 209-238.

Bulger M., Groudine M. 1999. Looping versus linking: toward a model for long-distance gene activation // Genes & Development. Vol. 13. No. 19. P. 2465-477.

Carroll S.B. 2001. Chance and necessity; the evolution of morphological complexity and diversity // Nature. Vol. 409. No. 6823. P. 1102- 1109.

Cavalier-Smith T. 2002a. The neomuran origin of archaebacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. Vol. 52. No. 1. P. 7-76.

Cavalier-Smith T. 2002b. The phagotrophic origin of eucaryotes and phylogenetic classification of Protozoa // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. Vol. 52. No. 2. P. 297-354.

Clark S.E. Meristems: start your signaling // Curr. Opin. Plant Biol. 2001. Vol. 4. No. 1. P. 28-32.

Computer Analysis of Genetic Macromolecules: structure, function and evolution 1994. N.A. Kolcha-nov, H. A. Lim, eds. Singapore: World Sci. 556 p.

Cosma M.P. 2002. Ordered recruitment: gene-specific mechanism of transcription activation // Molecular Cell. Vol. 10. No. 2. P. 227-236.

Cremer T., Cremer C. 2001. Chromosome territories, nuclear architecture and gene regulation in mammalian cells // Nat. Rev. Genet. Vol. 2. No. 4. P. 292-301.

Csordas A. 1989. A proposal for a possible role of nucleosome positioning in the evolutionary adjustment of introns // Int. J. Biochem. Vol. 1. No. 5. P. 455-461.

Davidson E.H., Peterson K.J., Cameron R.A. 1995. Origin of bilaterian body plans: evolution of developmental regulatory mechanisms // Science. Vol. 270. No. 5240. P. 1319- 1325.

Davis G.K., Patel N.H. 2002. Short, long, and beyond: molecular and embryological approaches to insect segmentation // Annu. Rev. Entomol. Vol. 47. P. 669-699.

Delaval K., Feil R. 2004. Epigenetic regulation of mammalian genomic imprinting // Curr. Opin. Genet. Dev. Vol. 14. No. 2. P. 188-195.

Denisov D.A., Shpigelman E.S., Trifonov E.N. 1997. Protective nucleosome centering at splice sites as suggested by sequence-directed mapping of the nucleosomes // Gene. Vol. 205. No. 1-2. P. 145-149.

De Souza S.J., Long M., Schoenbach L. et al. 1996. Intron positions correlate with module boundaries in ancient proteins // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 93. No. 25. P. 14632-14636.

Dynesius M., Jansson R. 2000. Evolutionary consequences of changes in species' geographical distributions driven by Milankovitch climate oscillations // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 97. No. 16. P. 9115-9120.

Eigen M. 1971. Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules // Naturwis-senschaften. Bd. 58. No. 10. S. 65-523.

Eldrege N., Gould S.J. 1972. Punctuated equilibria: an alternative to phyletic gradualism // Models in paleobiology / T.J.M. Schopf (ed.). San Francisco: Freeman Cooper & Co. P. 82-115.

Elena S.F., Lenski R.E. 2003. Microbial genetics: Evolution experiments with microorganisms: the dynamics and genetic bases of adaptation // Nat. Rev. Genet. Vol. 4. No. 6. P. 457—469.

Elena S.F., Lenski R.E. 1997. Test of synergistic interactions among deleterious mutations in bacteria //Nature. Vol. 390. No. 6658. P. 395-398.

Erwin D.H., Davidson E.H. 2002. The last common bilaterian ancestor // Development. Vol. 129. No. 13. P. 3021-3032.

Fedorova L., Fedorov A. 2003. Introns in gene evolution // Genetica. Vol. 118. No. 2. P. 123-131.

Ferrandiz C., Gu Q., Martienssen R., Yanofsky M. 2000. Redundant regulation of meristem identity and plant architecture by FRUITFULL, APETALA1 and CAULIFLOWER // Development. Vol. 127. No. 4. P. 725-734.

Ferrier D.E., Holland P.W. 2001. Ancient origin of the *Hox* gene cluster //Nat. Rev. Genet. Vol. 2. No. 1. P. 33-38.

Finnegan E., Matzke M. 2003. The small RNA world // J. Cell. Sci. Vol. 116. P. 4689-4693.

Fiol C.J., Mahrenholz A.M., Wang Y. et al. 1987. Formation of protein kinase recognition sites by covalent modification of the substrate. Molecular mechanism for the synergistic action of casein kinase II and glycogen synthase kinase 3 // J. Biol. Chem. Vol. 262. No. 29. P. 14042-14048.

Fletcher J.C., Brand U., Running M.P. et al. 1999. Signaling of cell fate decisions by CLAVATA3 in Arabidopsis shoot meristems // Science. Vol. 283. No. 5409. P. 1911-1914.

Fournier C., Goto Y, Ballestar E. et al. 2002. Allele-specific histone lysine methylation marks regulatory regions at imprinted mouse genes // EMBO J. Vol. 21. No. 23. P. 6560-6570.

Franch T., Gerdes K. 1996. Programmed cell death in bacteria: translational repression by mRNA end-pairing. //Mol. Microbiol. Vol. 21. No. 5. P. 1049-1060.

Galant R, Carroll S.B. 2002. Evolution of a transcriptional repression domain in an insect *Hox* protein // Nature. Vol. 415. No. 6874. P. 910-913.

Galant R., Walsh C.M., Carroll S.B. 2002. *Hox* repression of a target gene: extradenticlc-independent, additive action through multiple monomer binding sites // Development. Vol. 129. No. 13. P. 3115-3126.

Gibert J.M. 2002. The evolution of engrailed genes after duplication and speciation events // Dev Genes Evol. Vol. 212. No. 7. P. 307-318.

Gilbert S.F., Opitz J.M., Raff R.A. 1996. Resynthesizing evolutionary and developmental biology // Dev. Biol. Vol. 173. No. 2. P. 357-372.

Gilbert W., De Souza S.J., Long M. 1997. Origin of genes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 94. No. 15. P. 7698-7703.

Giot L., Bader J.S., Brouwer C. et al. 2003. A protein interaction map of *Drosophila melanogaster //* Science. Vol. 302. No. 5651. P. 1727-1736.

Gopalan V, Tan T.W., Lee B.T.K., Ranganathan S. 2004. Xpro: database of eukaryotic protein-encoding genes // Nucleic

Acids Res. Vol. 32. Database issue. P. D59-D63.

Graveley B.R. 2001. Alternative splicing: increasing diversity in the proteomic world // Trends Genet. Vol. 17. No. 2. P. 100-106.

Grenier J.K., Garber T.L., Warren R. et al. 1997. Evolution of the entire arthropod *Hox* gene set predated the origin and radiation of the onychophoran/arthropod clade // Curr. Biol. Vol. 7. No. 8. P. 547-553.

Griffiths-Jones S. 2004. The microRNA Registry//Nucleic Acids Res. Vol. 32. Database issue. P. D109-Dlll.

Hassan A.H., Prochasson P., Neely K.E. et al. 2002. Function and selectivity of bromodomains in anchoring chromatin-modifying complexes to promoter nucleosomes // Cell. V 111. No. 3. P. 369-379.

Hermoso A., Aguilar D., Aviles F.X., Querol E. 2004. TrSDB: a proteome database of transcription factors //Nucleic Acids Res. Vol. 32. Database issue. P. D171-D173.

Hobert O. 2004. Common logic of transcription factor and microRNA action // Trends Biochem. Sci. Vol. 29. No. 9. P. 462-468.

Hombria J.C.-G., Lovegrove B. 2003. Beyond homeosis - *Hox* function in morphogenesis and organogenesis // Differentiation. Vol. 71. No. 8. P. 461-476.

Irish V.F., Sussex I.M. 1990. Function of the apetala-1 gene during Arabidopsis floral development// Plant Cell. Vol. 2. No. 8. P. 741-753.

Ivamsenko V.A., Pintus S.S., Grigorovich D.A., Kolchanov N.A. 2005. PDBSite: a database of the 3D structure of protein functional sites. // Nucleic Acids Res. Vol. 33. Database issue. P. D183-D187.

Jaenisch R., Hochedlinger K., Eggan K. Vol. 265. Nuclear cloning, epigenetic reprogramming and cellular differentiation //Novartis Found Symp. 2005. P. 107-128.

Jeffery J.E., Bininda-Emonds O.R.P., Coates M.I., Richardson M.K. 2002. Analysing evolutionary patterns in amniote embryonic development. // Evol. Dev. Vol. 4. No. 4. P. 292-302.

Jong W.W. de. 1998. Molecules remodel the mammalian tree // Trends Ecol. Evol. Vol. 13. No. 7. P. 270-275.

Kanygin A.V. 2001. The Ordovician explosive divergence of the earth's organic realm: causes and effects of the biosphere evolution // Russian Geology and Geophisics Vol. 42. No. 4. P. 599-633.

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes http://www.genome.ad.jp/kegg/

Kempin S.A., Savidge B., Yanofsky M.F. 1995. Molecular basis of the cauliflower phenotype in *Arabidopsis II* Science. Vol. 267. No. 5197. P. 522-555.

Kenrick P., Crane P. R. 1997. The origin and early diversification of land plants: A cladistic study. Washington: Smith. Instit. Press. 592 p.

Knezetic J.A., Felsenfeld G. 1993. Mechanism of developmental regulation of alpha pi, the chicken embryonic alpha-globin gene // Mol. Cell. Biol. Vol. 13. No. 8. P. 4632-4639.

Knoll A.H., Carroll S.B. 1999. Early animal evolution: emerging views from comparative biology and geology // Science. Vol. 284. No. 5423. P. 2129-2137.

Kohler C., Grossniklaus U. 2002. Epigenetics: the flowers that come in from the cold // Curr. Biol. Vol. 12. No. 4. P. R129-R131.

Kolchanov N. A., Ananko E.A., Likhoshvai V. et al. 2002a. Gene networks description and modelling in the GeneNet system // Gene regulation and metabolism: post-genomic computational approaches. J. Collado-Vides, R. Hofestadt. Cambridge, eds.: MIT Press. P. 149-179.

Kolchanov N.A., Ignatieva E.V., Ananko E. A. et al. 2002b. Transcription regulatory regions database (TRRD): its status in 2002 // Nucl. Acids Res. Vol. 30. No. 1. P. 312-317.

Kolchanov N. A., Nedosekina E.A., Ananko E.A. et al. 2002 c. GeneNet database: description and modeling of gene networks // In Silico Biol. Vol. 2. No. 2. P. 97-110.

Kornberg R.D., Lorch Y. Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome // Cell. 1999. Vol. 98. No. 3. P. 285-294.

Lall S., Patel N.H. 2001. Conservation and divergence in molecular mechanisms of axis formation // Annu. Rev. Genet. Vol. 35. P. 407-437.

Lee K.Z., Eizinger A., Nandakumar R. et al. 2003. Limited microsynteny between the genomes of Pristionchus pacificus and Caenorhabditis elegans // Nucleic Acids Res. Vol. 31. No. 10. P. 2553-2560.

Lempel A., Ziv J. 1976. On the complexity of finite sequences // IEEE Trans, on Inf. Th. Vol. IT-22. No. 1. P. 75-81.

Levin B.R., Bergstrom C.T. 2000. Bacteria are different: Observations, interpretations, speculations, and opinions about the mechanisms of adaptive evolution in prokaryotes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 97. No. 13. P. 6981-6985.

Levitsky V.G., Podkolodnaya O.A., Kolchanov N.A., Podkolodny N.L. 2001. Nucleosome formation potential of eukaryotic DNA: tools for calculation and promoters analysis // Bioinformatics. Vol. 17. No. 11. P. 998-1010.

Li Q., Peterson K. R., Fang X., Stamatoyannopoulos G. 2002. Locus control regions // Blood. Vol. 100. No. 9. P.3077-3086.

Li Y.C., Korol A.B., Fahima T. et al. 2002. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. // Molecular Ecology. Vol. 11. No. 12. P. 2453-2465.

Lim L.P., Lau N.C., Garrett-Engele P. et al. 2005. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs //Nature. Vol. 433. No. 7027. P. 769-773.

Lolle S.J., Victor J.L., Young J.M., Pruitt R.E. 2005. Genome-wide non-mendelian inheritance of extragenomic information in Arabidopsis // Nature. Vol. 434. No. 7032. P. 505-509.

Long M., Deutsch M., Wang W. et al. 2003. Origin of new genes: evidence from experimental and computational analyses // Genetica. Vol. 118. No. 2-3. P. 171-182.

Lowman A.C., Purugganan M.D. 1999. Duplication of the Brassica oleracea APETALA 1 floral homeot-ic gene and the evolution of domesticated cauliflower // J. Hered. Vol. 90. No. 5. P. 514—520.

Lum L., Beachy P.A. 2004. The Hedgehog response network: sensors, switches, and routers // Science Vol. 304. No. 5678. P. 1755-1759.

Lynch M., Conery J.S. 2003. The origins of genome complexity// Science. Vol. 302. No. 5649. P 1401-1404.

Mahmoudi T., Verrijzer C.P. 2001 . Chromatin silencing and activation by Polycomb and trithorax group proteins // Oncogene. Vol. 20. No. 24. P. 3055-3066.

Mattick J.S., Gagen M.J. 2001. The evolution of controlled multitasked gene networks: the role of in-trons and other noncoding RNAs in the development of complex organisms // Mol. Biol. Evol. Vol. 18. No. 9. P. 1611-1630.

McCarrey J.R., Riggs A.D. 1986. Determinator-inhibitor pairs as a mechanism for threshold setting in development: a possible function for pseudogenes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 83. No. 3. P. 679-83.

McShea D. W. 200 1 . The minor transitions in hierarchical evolution and the question of a directional bias // J. Evol. Biology. Vol. 14. No. 3. P. 502-518.

Morris S.C. 2000.The Cambrian «explosion»: Slow-fuse or megatonnage // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 97. No. 9. P. 4426-Л429.

Nakamura Y, Koyama K., Matsushima M. 1998. VNTR (variable number of tandem repeat) sequences as transcriptional, translational, or functional regulators // J. Human Genetics. Vol. 43. No. 3. P. 149-152.

Namy O., Rousset J.P., Napthine S., Brierley I. Reprogrammed genetic decoding in cellular gene expression // Mol. Cell. 2004. Vol. 13. No. 2. P. 157-168.

Narlikar G.J., Fan H.-Y, Kingston R.E. 2002. Cooperation between complexes that regulate chromatin structure and transcription // Cell. Vol. 108. No. 4. P.475-487.

Noormohammadi A.H., Markham P.P., Kanci A. et al. 2000. A novel mechanism for control of antigenic variation in the haemagglutinin gene family of mycoplasma synoviae // Mol. Microbiol. Vol. 35. No. 4. P. 911-923.

Omelchenko M.V., Makarova K.S., Wolf Y.I. et al. 2003. Evolution of mosaic operons by horizontal gene transfer and gene displacement in situ // Genome Biol. Vol. 4. No. 9.

Outten C.E., Culotta V.C. 2004. Alternative start sites in the Saccharomyces cerevisiae GLR1 gene are responsible for mitochondrial and cytosolic isoforms of glutathione reductase // J. Biol. Chem. Vol. 279. No. 9. P. 7785-7791.

Palatnik J.F., Allen E., Wu X. et al. 2003. Control of leaf morphogenesis by microRNAs // Nature. Vol. 425. No. 6955. P. 257-263.

Pant V, Mariano P., Kanduri C. et al. 2003. The nucleotides responsible for the direct physical contact between the chromatin insulator protein CTCF and the HI 9 imprinting control region manifest parent of origin-specific long-distance insulation and methylation-free domains // Genes Dev. Vol. 17. No. 5. P 586-590.

Pena L., Martin-Trillo M., Juarez J. et al. 2001 . Constitutive expression of Arabic/apsis LEAFY or APETALA 1 genes in citrus reduces their generation time // Nat. Biotechnol. Vol. 19. No. 3. P. 263-267.

Peterson K.J., Cameron R.A., Davidson E.H. 2000. Bilaterian origins: significance of new experimental observations //Dev. Biol. Vol. 219. No. 1. P. 1-17.

Peterson K.J., Eernisse D.J. 2001. Animal phylogeny and the ancestry of bilaterians: inferences from morphology and 18S rDNA gene sequences // Evol. Dev. Vol. 3. No. 3. P. 170-205.

Ponomarenko IV, Furman D.P., Frolov A.S. et al. 2001. ACTIVITY: a database on DNA/RNA sites activity adapted to apply sequence-activity relationships from one system to another // Nucleic Acids Res. Vol. 29. No. 1. P. 284-287.

Ponomarenko J.V., Ponomarenko M.P., Frolov A.S. et al. 1999. Conformational and physicochemical DNA features specific for transcription factor binding sites // Bioinformatics. Vol. 1 5. No. 7-8. P. 654-668.

Prince V.E., Pickett F.B. 2002. Splitting pairs: the diverging fates of duplicated genes // Nature Reviews Genetics. Vol. 3. No. 11. P. 827-837.

Prusiner S.B. 1996a. Molecular biology and pathogenesis of prion diseases // Trends Biochem. Sci. Vol. 21. No. 12. P. 482-487.

Prusiner S.B. 1996b. Prion biology and diseases — laughing cannibals, mad cows, and scientific heresy // Med. Res. Rev. Vol. 16. No. 5. P. 487-505.

Raff R.A., Sly B.J. 2000. Modularity and dissociation in the evolution of gene expression territories in development // Evol Dev Vol 2 No 2 P 102-113

Reenan R.A. 2005. Molecular determinants and guided evolution of species-specific RNA editing // Nature. V .434. No. 7031. P. 409-413.

Reinhart B.J., Weinstein E.G., Rhoades M.W. et al. 2002. MicroRNAs in plants // Genes Dev. Vol. 16. No. 13. P. 1616-1626.

Rhoades M.W. Reinhart B.J., Lim L.P. et al. 2002. Prediction of plant microRNA targets // Cell. Vol. 110. No. 4. P. 513-520.

Richardson M.K. 1995. Heterochrony and the phylotypic period. // Dev. Biol. Vol. 172. No. 2. P. 412-421.

Richardson M.K., Hanken J., Gooneratne M.L. et al. 1997. There is no highly conserved embryonic stage in the vertebrates: implications for current theories of evolution and development // Anat. Embryol. (Berl). Bd. 196. No. 2. S. 91-106.

Richardson M.K., Keuck G. 2002. Haeckel's ABC of evolution and development // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. Vol. 77. No. 4. P. 495-528.

Riggs A.D., Xiong Z., Wang L., LeBon J.M. 1998. Methylation dynamics, epigenetic fidelity and X chromosome structure //Novartis Found Symp. Vol. 214. P. 214-225.

Rissanen J. Stochastic complexity and modeling // The Annals of Statistics. 1986. Vol. 14. No. 3. P. 1080-1100.

Rogozin I. B., Makarova K. S., Natale D. A. et al. 2002. Congruent evolution of different classes of non-coding DNA in prokaryotic genomes // Nucl. Acids Res. Vol. 30. No. 1 9. P. 4264-4271.

Ronshaugen M., McGinnis N., McGinnis W. 2002. Hox protein mutation and macroevolution of the insect body plan // Nature. Vol. 415. No. 6874. P. 914-917.

Rubin G.M., Yandell M.D., Wortman J.R. et al. 2000. Comparative genomics of the eukaryotes // Science. Vol. 287. No. 5461. P. 2204-2215.

Sakharkar M., Passetti F., de Souza J.E. et al. 2002. Exlnt: an exon intron database // Nucl. Acids Res. Vol. 30. No. l.P. 191-194.

Satchwell S. C., Drew H. R., Travers A.A. 1986. Sequence periodicities in chicken nucleosome core DNA // J. Mol. Biol. Vol. 191. No. 4. P. 659-675.

Saxonov S., Daizadeh I., Fedorov A., Gilbert W. 2000. EID: the exon-intron database-an exhaustive database of protein-coding intron-containing genes //Nucl. Acids Res. Vol. 28. No. 1. P. 185-190.

Seaver E.G. 2003. Segmentation: mono- or polyphyletic? // Int. J. Dev. Biol. Vol. 47. No. 7-8. P. 583-595.

Seitz H., Youngson N., Lin S.P. et al. 2003. Imprinted microRNA genes transcribed antisense to a reciprocally imprinted retrotransposon-like gene // Nat. Genet. Vol. 34. No. 3. P. 261-262.

Scholz A., Trass M., Beato M. Hormone-dependent recruitment of NF-Y to the uteroglobin gene enhancer associated with chromatin remodeling in rabbit endometrial epithelium // J Biol Chem. 1999. Vol. 274., No. 7. P. 4017-4026.

Sommer R.J., Eizinger A., Lee K.Z. et al. 1998. The Pristionchus HOX gene Ppa-lin-39 inhibits programmed cell death to specify the vulva equivalence group and is not required during vulval induction // Development. Vol. 125. No. 19. P. 3865-3873.

Stauber M., Jackie H., Schmidt-Ott U. 1999. The anterior determinant bicoid of Drosophila is a derived Hox class 3 gene. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 96. No. 7. P. 3786-3789.

Stepanenko I.L., Grigor'ev S.A. 2002a. Organization of the gene network of apoptosis. // Proc. Ill Intern. Conference on bioinformatics of genome regulation and structure (BGRS'2002). Novosibirsk: ICG. Vol. 2. P. 89-91.

Stepanenko I.L., KolchanovN.A. 2003. Apoptosis Gene Network: description in the GeneNet and TRRD databases // Ann. N. Y. Acad. Sci. Vol. 1010. P. 16-18.

Stepanenko I.L., Podkolodnaya O.A., Kolchanov N.A. 2002b. Gene networks: principles of organization and mechanisms of operation and integration // Proc. Ill Intern. Conference on bioinformatics of genome regulation and structure (BGRS'2002). Novosibirsk: ICG. Vol. 2. P. 111-115.

Taft R.J., Mattick J.S. 2003. Increasing biological complexity is positively correlated with the relative genome-wide expansion of non-protein-coding DNA sequences // Genome Biology. Vol. 5. No. 1.

Tamames J. 2001. Evolution of gene order conservation in prokaryotes // Genome Biol. Vol. 2. No. 6.

Tchurikov N. A., Krasnov A.N., Ponomarenko N.A. et al. Forum domain in Dmsophila melanogaster cut locus possesses looped domains inside //Nucl. Acids Res. 1998. Vol. 26. No. 13. P. 3221-3227.

The Arabidopsis genome initiative analysis of the genome sequence of the flowering plant Arabidopsis thaliana 2000. // Nature. Vol. 408. No. 6814. P. 796-815.

The Gene Ontology Consortium. 2004. The Gene Ontology (GO) database and informatics resource //Nucl. Acids Res. Vol. 32. Database issue. P. D258-D261.

Theissen G., Becker A., Di Rosa A. et al. 2000. A short history of MADS-box genes in plants // Plant Mol. Biol. Vol. 42.

No. 1. P. 115-149.

Theissen G., Saedler H. 2001. Floral quartets // Nature. Vol. 409. No. 6819. P. 469-471.

Theissen G., Saedler H. 1995. MADS-box genes in plant ontogeny and phylogeny: Haeckel's «biogenetic law» revisited // Curr. Opin. Genet. Dev. Vol. 5. No. 5. P. 628-639.

Turnaev I.I., Podkolodnaya O.A. 2002. Gene network on cell cycle control. Proc. Ill Intern. Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure (BGRS'2002). Vol. 3. Novosibirsk: ICG. P. 95-98.

Wang R.L., Stec A., Hey J. et al. 1999. The limits of selection during maize domestication //Nature. Vol. 398. No. 6724. P. 236-239.

Watanabe N., Che F.S., Iwano M. etal. 2001. Dual targeting of spinach protoporphyrinogen oxidase II to mitochondria and chloroplasts by alternative use of two in-frame initiation codons // J. Biol. Chem. Vol. 276. No. 23. P. 20474-20481.

Weigel D., Alvarez J., Smyth D.R. et al. 1992. E.M. LEAFY controls floral meristem identity т Arabidopsis II Cell. Vol. 69. No. 5. P. 843-859.

Weigmann K., Klapper R., Strasser T. et al. 2003. FlyMove — a new way to look at development of Dmsophila II Trends Genet. Vol. 19. No. 6. P. 310-311.

Whiting M.F., Bradler S., Maxwell T. 2003. Loss and recovery of wings in stick insects // Nature. Vol. 421. No. 6920. P. 264-267.

Wolff C., Schroder R., Schulz C. et al. 1998. Regulation of the Tribolium homologues of caudal and hunchback in Dmsophila: evidence for maternal gradient systems in a short germ embryo // Development. Vol. 125. No. 18. P. 3645-3654.

Zhang A., Wassarman K.M., Rosenow C. et al. 2003. Global analysis of small RNA and mRNA targets of Hfq //Mol. Microbiol. Vol. 50. No. 4. P. 1111-1124.

Zhang J. 2003. Evolution by gene duplication: an update // Trends in Ecology and Evolution. Vol. 18. No. 6. P. 292-298.

Zhang P., Chopra S., Peterson T.A. 2000. segmental gene duplication generated differentially expressed myb-homologous genes in maize // Plant Cell. Vol. 12. No. 12. P.2311-2322.

Zuckerkandl E. 2002.Why so many noncoding nucleotides? The eukaryote genome as an epigenetic machine//Genetica. Vol. 115. No. 1. P. 105-129.